

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. K. Peter

**Veränderungen des intravasalen Blutvolumens
bei Patientinnen mit Operation nach Wertheim und
präoperativer akuter normovolämer Hämodilution mit
5 %-Albumin oder 6 %-HES:
Eine prospektive randomisierte Untersuchung**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Sabine Mayr-Gehrke
aus
Kempten

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv. Doz. Dr. M. Rehm
Mitberichterstatter:	Priv. Doz. Dr. C. Reithmann Priv. Doz. Dr. O. Garaschuk
Dekan:	Prof. Dr. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	27.07.2006

Meinem Vater

Inhalt:

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	3
TABELLENVERZEICHNIS.....	4
1 EINLEITUNG	6
1.1 Transfusionsrisiken	6
1.2 Maßnahmen zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen	8
1.3 Die akute normovoläme Hämodilution (ANH) und Erfassung des Blutvolumens	10
2 PATIENTEN UND METHODIK	13
2.1 Das Patientinnen-Kollektiv	13
2.1.1 Ziele.....	13
2.1.2 Charakterisierung des Patientinnen-Kollektivs	14
2.2 Anästhesieverfahren	16
2.3 Untersuchungsablauf.....	17
2.4 Messmethodik	20
2.4.1 Bestimmung des Erythrozytenvolumens mit Fluorescein und der FACS-Methode	20
2.4.2 Hämatokrit- und Proteinbestimmung	35
2.4.3 Bestimmung der Plasmavolumens mit der ICG-Methode	35
2.4.4 Bestimmung von HES im Plasma und im Urin.....	45
2.5 Mathematische Analysen und abgeleitete Größen	47
2.5.1 Allgemeine Berechnungen zu den Blutvolumina.....	47
2.5.2 Berechnungen zur ANH-Bilanz für Protein und HES.....	49
2.5.3 Berechnungen zur Gesamtbilanz für Protein und HES	50
2.5.4 Berechnungen zu Einsparungen an Erythrozyten durch die ANH.....	52
2.5.5 Statistische Mittel.....	53
3 ERGEBNISTEIL.....	54
3.1 Vor akuter normovolämer Hämodilution (ANH).....	55
3.1.1 Blutvolumen-Status vor ANH	55
3.1.2 Protein-Status vor ANH	58

3.2	Nach akuter normovolämer Hämodilution (ANH)	59
3.2.1	Blutentzug und Volumenrückgabe	59
3.2.2	Blutvolumenstatus nach ANH	61
3.2.3	Protein- und HES-Status nach ANH	66
3.3	Vor Retransfusion	69
3.3.1	Blutvolumenstatus vor Retransfusion	69
3.3.2	Protein- und HES-Status vor Retransfusion	75
3.4	Nach Operationsende	78
3.4.1	Blutvolumenstatus nach Operationsende	78
3.4.2	Protein- und HES-Status nach Operationsende	84
3.5	Plasmabilanz	86
3.6	Proteinbilanz	92
3.7	HES-Bilanz	94
3.8	Einsparungen an Erythrozyten durch die ANH	97
4	DISKUSSION	100
4.1	Effektivität der ANH	100
4.2	Darstellung des Volumenstatus dreier Einzelfälle unserer Studie	105
4.3	Volumeneffekt	111
4.4	Der „Endothelial Surface Layer“ (ESL)	117
5	ZUSAMMENFASSUNG	136
6	LITERATURVERZEICHNIS	139
	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	159
	DANKSAGUNG	161
	LEBENS LAUF	162

ABBILDUNGSVERZEICHNIS:

Abb. 1.1:	Ausmaß an Ängsten bezüglich der Sicherheit von Bluttransfusionen im Laufe der Jahrhunderte.....	7
Abb. 2.1:	Strukturformel von Fluorescein-Natrium	20
Abb. 2.2:	Exzitations- und Emissionsspektrum von Fluorescein	21
Abb. 2.3:	Schematischer Aufbau des Durchflusszytometers.....	25
Abb. 2.4:	Schematisches Histogramm von FL1	27
Abb. 2.5:	Vergrößerung des Peaks der markierten Erythrozyten	28
Abb. 2.6:	Einzeichnen der Grenzlinien.....	28
Abb. 2.7:	FACS-Graphik von Blut <u>ohne</u> markierte Erythrozyten	29
Abb. 2.8:	FACS-Graphik von Blut <u>mit</u> markierten Erythrozyten.....	30
Abb. 2.9:	Strukturformel von Indocyaningrün	35
Abb. 2.10:	Spektrogramm von Indocyaningrün und Hämoglobin	37
Abb. 2.11:	Schematischer Aufbau der Messeinheit zur ICG-Messung.....	38
Abb. 2.12:	Eichgerade einer Patientin	40
Abb. 2.13:	Messwerte einer Patientin	41
Abb. 3.2.1:	Regressionsanalyse und Bland-Altman-Plot von Delta RCV gegenüber dem berechneten Erythrozytenentzug	65
Abb. 3.5.2:	Regressionsanalyse und Bland Altman-Plot von gemessenem chirurgischem Blutverlust versus geschätztem Blutverlust	91
Abb. 1.6.1:	Proteinbilanz der HA-Gruppe und der HES-Gruppe.....	94
Abb. 1.7.1:	Graphische Darstellung der HES-Gesamtbilanz	96
Abb. 4.1:	Vergleich des geschätzten Normal-BV mit dem gemessenen BV-1 vor Operation im Gesamtkollektiv.....	106
Abb. 4.2a und 4.2b:	Nach dem „neuen Modell“ berechnetes PV-circ, geschätztes ESL-Volumen und gemessenes PV-ICG vor und nach ANH	120
Abb. 4.3:	Regressionsanalyse Delta f-cell versus Delta ESL	122
Abb. 4.4:	Regressionsanalyse Volumeneffekt versus Delta ESL	124

TABELLENVERZEICHNIS:

Tabelle 2.1a	Anthropometrische Daten der Patientinnen der HA-Gruppe in Form von Alter, Größe, Gewicht und Körperoberfläche	15
Tabelle 2.1b	Anthropometrische Daten der Patientinnen der HES-Gruppe in Form von Alter, Größe, Gewicht und Körperoberfläche	15
Tabelle 2.3	Zeitlicher Ablauf der Plasma- und Erythrozytenvolumenmessungen	17
Tabelle 2.4	Einstellungen am Durchflusszytometer (FACS)	27
Tabelle 2.5	Abkürzungen und Herkunft der verwendeten Parameter zur RCV-Berechnung	33
Tabelle 2.6	Schreiberauslenkungen bei definierten ICG-Mengen	42
Tabelle 2.7	Schreiberauslenkungen zu definierten Zeitpunkten	43
Tabelle 3.1.1	Anthropometrische Daten und Operationsdauer	54
Tabelle 3.1.2	Hämodynamische Parameter	55
Tabelle 3.1.3a	Blutvolumen-Status der HA-Gruppe vor ANH	56
Tabelle 3.1.3b	Blutvolumen-Status der HES-Gruppe vor ANH	56
Tabelle 3.1.4a	Vergleich der Messwerte der HA-Gruppe vor ANH mit Sollwerten nach Pearson und Haller	57
Tabelle 3.1.4b	Vergleich der Messwerte der HES-Gruppe vor ANH mit Sollwerten nach Pearson und Haller	57
Tabelle 3.1.5	Ausgangswerte vor ANH	59
Tabelle 3.2.1	Durch ANH entzogene Volumina und Volumenrückgabe des entsprechenden Kolloids in Absolutwerten	60
Tabelle 3.2.2a	Blutvolumen-Status der HA-Gruppe nach ANH	61
Tabelle 3.2.2b	Blutvolumen-Status der HES-Gruppe nach ANH	62
Tabelle 3.2.3	Veränderungen der Blutvolumina und Volumeneffekt der Kolloide	63
Tabelle 3.2.4	Proteinstatus nach ANH	67
Tabelle 3.2.5	HES-Status der HES-Gruppe nach ANH	68
Tabelle 3.3.1a	Blutvolumen-Status der HA-Gruppe vor Retransfusion	71
Tabelle 3.3.1b	Blutvolumen-Status der HES-Gruppe vor Retransfusion	71
Tabelle 3.3.2	Änderung des Plasmavolumens, des Erythrozytenvolumens und des Gesamtblutvolumens im Vergleich zum Messzeitpunkt nach ANH	73

Tabelle 3.3.3	Änderung des EZR und Blutverlust	74
Tabelle 3.3.4	Vergleich zwischen dem Proteinstatus zum Zeitpunkt vor Retransfusion und nach abgeschlossener ANH.....	75
Tabelle 3.3.5	HES-Konzentration vor Retransfusion.....	77
Tabelle 3.4.1a	Blutvolumen-Status der HA-Gruppe nach Operationsende	80
Tabelle 3.4.1b	Blutvolumen-Status der HES-Gruppe nach Operationsende	80
Tabelle 3.4.2a	Vergleich der Messwerte der HA-Gruppe nach Operationsende mit Sollwerten nach Pearson und Haller	81
Tabelle 3.4.2b	Vergleich der Messwerte der HES-Gruppe nach Operationsende mit Sollwerten nach Pearson und Haller	81
Tabelle 3.4.3	Änderungen des Plasma-, Erythrozyten- und Blutvolumens im Vergleich zu den Werten vor ANH und nach Operationsende	83
Tabelle 3.4.4	Proteinstatus der HA-Gruppe und der HES-Gruppe nach Operationsende	84
Tabelle 3.4.5	HES-Konzentration im Plasma nach Operationsende.....	86
Tabelle 3.5.1	Plasmabilanz der HA-Gruppe und der HES-Gruppe.....	87
Tabelle 3.6.1	Proteinbilanz der HA-Gruppe und der HES-Gruppe.....	92
Tabelle 3.7.1	HES-Gesamtbilanz für die HES-Gruppe.....	95
Tabelle 3.8.1	Berechnung der durch ANH eingesparten Menge an Erythrozyten	98
Tabelle 4.1	Blutvolumen-Status von drei Patientinnen vor ANH, nach ANH und postoperativ.....	109
Tabelle 4.2	Berechnungen zu Protein- und HES-Verlust aus dem Intravasalraum nach dem „klassischen“ und dem „neuen Modell“	126

1 EINLEITUNG

1.1 Transfusionsrisiken

Nachdem immer mehr Patienten allogenen Bluttransfusionen negativ gegenüberstehen – auch wenn diese durch verbesserte Screening-Methoden (Allian 2003, Murphy 2002) in den letzten Jahren immer sicherer geworden sind – ist die Vermeidung von perioperativen Fremdbluttransfusionen ein erklärtes Ziel der wissenschaftlichen Forschung.

Zwar ist das Risiko einer HIV- und Hepatitis C- Übertragung durch Fremdblut in den letzten Jahren immer geringer geworden und liegt derzeit bei ca. 1:200000 bis 1:2 Mio. für HIV bzw. 1:30000 bis 1:150000 für HCV (Allian 2003, Goodnough et al. 1999), dafür wurden jedoch neuerdings weitere Viren im Spenderblut gesunder Blutspender entdeckt. Es handelt sich dabei z.B. um das Hepatitis G Virus (Itoh et al. 1999) oder das mit dem Kaposi-Sarkom assoziierte Humane Herpesvirus 8 (Blackbourn et al. 1997). Auch die Übertragung von bisher unbekannten Viren oder der Creutzfeld-Jakob-Erkrankung (Blajchman et al. 2004) durch Fremdblut erscheint durchaus möglich und beunruhigt Patienten zunehmend (Turner und Ironside 1998).

Weitere Risiken von Fremdbluttransfusionen sind immunologisch ausgelöste febrile (bis zu 5 % Risiko; Vanderlinde et al. 2002), hämolytische oder allergische Reaktionen (Perrotta und Snyder et al. 2001) und das höhere Risiko einer postoperativen Infektion (Vamvakas 2002) oder das eines Tumor-Rezidivs durch Immunomodulation (Blajchman 2002¹, Spiess et al. 1998, Thomas et al. 1996). Dabei steht das Auftreten von postoperativen Infektionen nachweislich in einer hochsignifikanten Relation zu der Menge an transfundiertem Fremdblut (Innerhofer et al. 1999, Carson et al. 1999).

In **Abbildung 1.1** ist schematisch dargestellt, welche Transfusionsrisiken im Laufe der Jahre Ärzte und Patienten besonders beunruhigten.

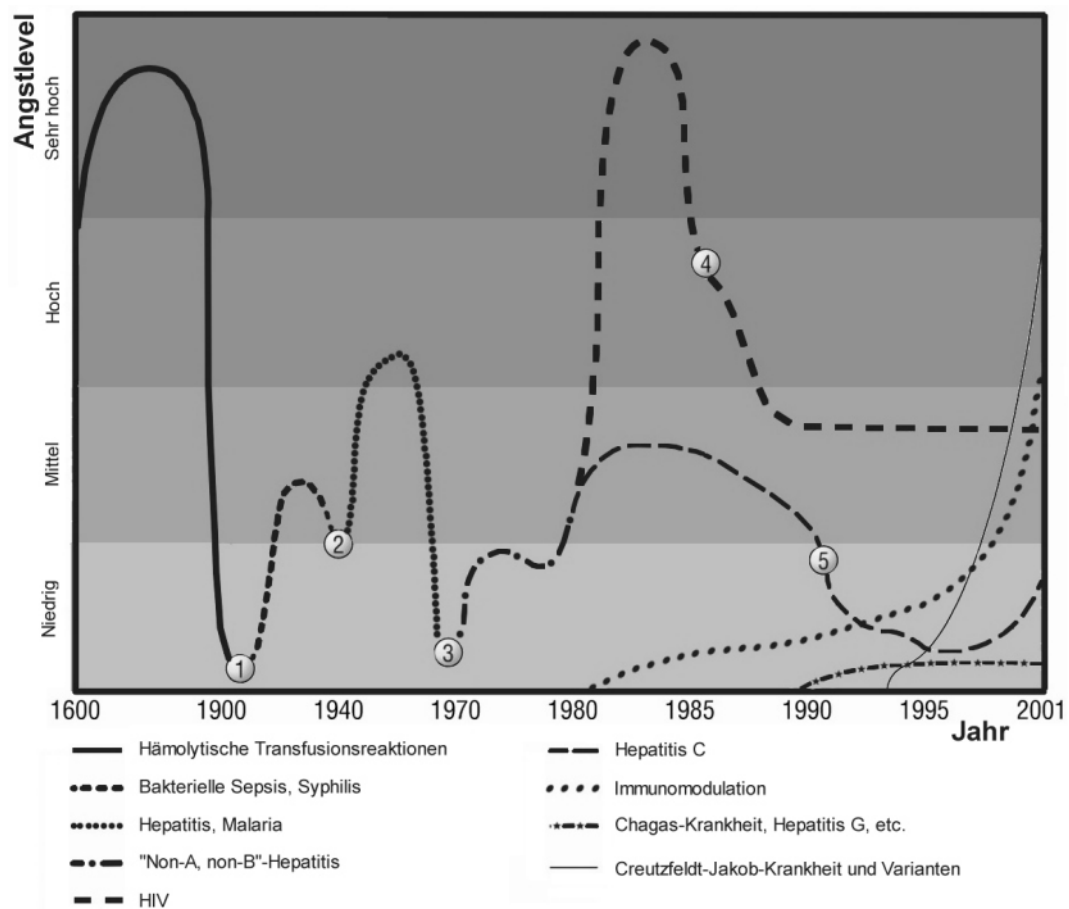


Abb. 1.1: Ausmaß an Ängsten bezüglich der Sicherheit von Bluttransfusionen im Laufe der Jahrhunderte, modifiziert nach Vanderlinde et al. 2002: ① Entdeckung der AB0/Rh- Blutgruppen-Antigene, ② Lagerung bei 4°C und Einführung des Coombs- Test, ③ HBs-Antigen-Test, ④ HIV-Antikörpertest, ⑤ Hepatitis-C-Screening

Die Mortalität bei Fremdbluttransfusionen untersuchten Herbert et al. in einer prospektiven randomisierten Multicenter-Studie mit 838 auf Intensivstationen behandelten Patienten und zwei Transfusion-Regimes, wovon eines eher locker, das andere sehr restriktiv war. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass zwar die Mortalität innerhalb der ersten 30 Tage in beiden Gruppen gleich war, jedoch die Gruppe mit dem restriktiveren Transfusions-Regime eine signifikant geringere Mortalität während des Krankenhausaufenthalts und eine signifikant niedrigere Rate an Auftreten von Lungenödem, Myokardinfarkt und Multiorganversagen aufwies (Herbert et al. 1999).

Zu den genannten Risiken von Fremdbluttransfusionen kommen noch weitere Nachteile, wie z.B. hohe Lagerungs-Kosten, die Gefahr der Verwechslung bei

Transfusion (Regan und Taylor 2002) sowie die Möglichkeit einer bakteriellen Kontamination der Blutkonserven (Dodd 2003, Pealer et al. 2003, Blajchman 2002²).

1.2 Maßnahmen zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen

In der vorliegenden Studie wurde als fremdblutsparende Methode die **akute präoperative normovoläme Hämodilution (ANH)** bei 20 Patientinnen mit Zervixkarzinom durchgeführt, die sich einer Operation nach Wertheim mit hohem zu erwartenden Blutverlust unterziehen mussten. Dabei wurde den Patientinnen bis zu einem Zielhämatokrit von 22 Vol.% präoperativ Blut entzogen und simultan Kolloid substituiert. Als Plasmaersatzmittel dienten bei der einen Hälfte der Patientinnen 5 %-Humanalbumin, bei der anderen Hälfte 6 %-Hydroxyethylstärke. Bei einem intraoperativen Hämatokrit von 18 Vol.% bzw. bei Operationsende, soweit bis dahin der Retransfusionstrigger noch nicht erreicht worden war, erfolgte die Rückgabe des entzogenen ANH-Blutes. Die so erzielte intraoperative Verdünnung der Erythrozyten hatte zur Folge, dass mit der chirurgischen Blutung relativ weniger Erythrozyten verloren und dadurch Fremdbluttransfusionen selbst bei hohem chirurgischen Blutverlust vermieden wurden.

Auf der Suche nach Methoden zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen haben sich neben der in unserer Studie durchgeführten ANH insbesondere zwei weitere Verfahren im Vorfeld einer geplanten Operation etabliert: Zum einen handelt es sich dabei um die präoperative Gabe von Erythropoetin. Dies ist eine im Rahmen vieler vergleichender Studien praktizierte effiziente, etablierte, jedoch mit hohen Kosten verbundene Methode zur Vermeidung allogener Transfusionen (Goodnough et al. 1997). Erythropoetin wird präoperativ insgesamt gut vertragen und wird mit oraler oder intravenöser Eisensubstitution kombiniert, um eine besonders effektive Anhebung des Serum-Hämoglobinspiegels zu erreichen (Goodnough et al. 1997). Als Nebeneffekt der Hämoglobin-Zunahme wird erreicht, dass bei zusätzlicher Durchführung einer ANH diese an Effektivität gewinnt (Weiskopf 1995), was in der Diskussion noch ausführlich erläutert werden soll.

Die zweite etablierte Methode, die bereits präoperativ durchgeführt wird und nachgewiesenermaßen die Fremdbluttransfusionsrate (Bengtsson und Bengtson 1996, Thomas et al. 1996) verringert, stellt die präoperative Eigenblutspende dar. Dieses Verfahren als blutsparende Alternative erfordert bereits drei bis fünf Wochen vor elektiver OP eine zwei- bis viermalige Entnahme von ca. 500 ml Patientenblut. Das Blut wird in sterilen Plastikbeuteln aufbewahrt, die Antikoagulation erfolgt mittels Citrat-Glucose-Lösung (Vanderlinde et al. 2002). Auch wenn kurzfristige Eigenblutspenden am Tag vor der Operation beschrieben wurden, die zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen beitrugen (Maze et al. 2003), so erfolgt dennoch die letzte Eigenblutspende üblicherweise 48 – 72 Stunden vor dem operativem Eingriff, um noch den Ausgleich des Blutvolumens zu ermöglichen.

Hohe Kosten stellen auch bei der Eigenblutspende ein Problem dar (Vanderlinde et al. 2002), wenngleich z.B. in Ländern der Dritten Welt diese geringer ausfielen als bei Fremdbluttransfusionen (Nnodu et al. 2003). Dies lag jedoch hauptsächlich an der höheren Rate an postoperativen Infektionen und den damit verbundenen Kosten nach Fremdblutspende. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen Auftreten postoperativer Infektionen und Immunomodulation nach Fremdbluttransfusionen ist hier wiederum naheliegend: Bisher wurde Immunomodulation nur bei Fremdblut-, nie bei Eigenbluttransfusion nachgewiesen (Blumberg und Heal 2000). Diesem positiven Aspekt der Eigenblutspende stehen allerdings weitere Nachteile gegenüber: Die Eigenblutspende wird oft als Blut-Verschwendung bezeichnet, da nur ca. 50 % des Blutes transfundiert werden und das übrige Blut selten anderen Patienten zur Verfügung gestellt werden kann, da die Eigenblutspender gesundheitlich häufig nicht den Anforderungen entsprechen, die an Fremdblutspender gestellt werden. Die dadurch notwendig werdende erhöhte Anforderung bei der personenbezogenen Lagerung der Blutkonserven vergrößert das Risiko einer Verwechslung bei Transfusion. Die Eigenblutspende ist zudem ungeeignet für Kinder (mit weniger als 40 kg Körpergewicht), Erwachsene mit ernsthaften hämodynamischen Problemen oder aktiven systemischen Infektionskrankheiten und Patienten mit Durchfallerkrankungen, da in diesem Fall die Gefahr der bakteriellen Kontamination des gespendeten Bluts steigt (Vanderlinde et al. 2002), und letztendlich

als Prozedur meist sehr unbequem für Patienten (Anreise zu Zentrum für Transfusionsmedizin, Müdigkeit als Folge der Anämie).

Auf der Suche nach einer effizienten Methode zur Vermeidung von Fremdbluttransfusionen bietet die in unserer Studie praktizierte akute normovoläme Hämodilution den Vorteil, dass sie im Gegensatz zur Erythropoetin-Gabe und Eigenblutspende nicht nur bei elektiven Operationen, sondern auch bei Notfall-Operationen anwendbar ist. Wie im folgenden Methodikteil beschrieben, erfolgt die Durchführung der ANH unter Narkose mit genauem Monitoring, ohne dass für die Patienten zusätzlicher Aufwand oder Stress entsteht (Monk et al. 1997). Die kurze intraoperative Lagerung des ANH-Blutes bei Raumtemperatur hat den Vorteil einer nur minimalen Gefahr von Verschleiß bzw. Schädigung der Gerinnungsfaktoren und der Blutzellen (Vanderlinde et al. 2002). Das entzogene Patientenblut verlässt den Operationssaal nicht, so dass zum einen die Verwechslungsgefahr und hämolytische Reaktionen durch ABO-Inkompatibilität ausgeschlossen und zum anderen Lagerungskosten vermieden werden (Goodnough 2003). Auch ist das Vorliegen einer systemischen Infektion bei der ANH im Gegensatz zur Eigenblutspende kein Ausschlusskriterium. Da das ANH-Blut intra- oder postoperativ in jedem Fall vollständig transfundiert wird, kann ANH auch nicht als „Blut-Verschwendung“ bezeichnet werden (Goodnough 2003).

1.3 Die akute normovoläme Hämodilution (ANH) und Erfassung des Blutvolumens

Die akute normovoläme Hämodilution bietet also eine Reihe von Vorteilen gegenüber den anderen oben erwähnten Methoden der Fremdbluteinsparung. Entscheidend für den breiteren Einsatz der ANH ist jedoch der Beweis ihrer Effektivität, d.h. dass durch Anwendung der ANH nachweislich Erythrozyten eingespart werden können. Eines der wichtigsten Ziele unserer Studie war daher, verlässliche Daten zur Volumenwirksamkeit der verwendeten Kolloide, sowie eine möglichst exakte Erfassung der Blutvolumina zu erhalten, um so die Erythrozyten-Einsparungen genau berechnen zu können. Dabei tritt jedoch ein ganz wesentliches Problem auf: Das Blutvolumen ist keinesfalls eine einfach zu bestimmende „homogene“ Größe. Es besteht vielmehr aus

zwei sehr unterschiedlichen Kompartimenten, nämlich dem flüssigen Plasmavolumen und dem korpuskulären Erythrozytenvolumen (Haller und Finsterer 1994). Diese beiden Kompartimente unterliegen jeweils wiederum interindividuellen Schwankungen. So kann beispielsweise ein hohes Plasmavolumen von einer großzügigen Infusionstherapie kommen oder ein sehr hohes Erythrozytenvolumen z.B. krankheitsbedingt im Rahmen einer Polyzythämia vera auftreten. Ggesetzt den Fall diese beiden Konstellationen würden gleichzeitig bei einem Patienten vorkommen, so könnte die alleinige Bestimmung des Hämatokrits fälschlicherweise ein normales Blutvolumen vortäuschen. Der Hämatokrit entspricht der Relation des Erythrozytenvolumens zum Gesamtblutvolumen und bietet damit einen unzureichenden Marker für die Quantifizierung des Blutvolumenstatus eines Patienten. So kann unter Umständen auch bei einem niedrigen Erythrozytenvolumen kombiniert mit einem ebenfalls niedrigen Plasmavolumen, z.B. bei einem exsikierten Patienten, der normwertige Hämatokrit eine vorliegende Anämie und Hypovolämie verschleiern. Auch wenn im klinischen Alltag oder selbst in aktuellen wissenschaftlichen Studien (Berg et al. 2002, Brauer et al. 2002, Drobin und Hahn 2002) immer noch der Hämatokrit als wichtigster Parameter der Blutvolumen-Bestimmung und gleichzeitig als Indikator für Blutvolumen-Veränderungen gilt, so wurde dennoch die direkte Bestimmung des Blutvolumens mittels der Messung ihrer beiden Kompartimente Plasmavolumen und Erythrozytenvolumen angestrebt.

Dabei ermöglichte die in dieser Studie verwendete Methode der Plasmavolumenmessung mit dem Tricarbocyaninfarbstoff **Indocyaningrün** (ICG) durch rasche und ausschließliche Bindung an Plasmaproteine (Landsman et al. 1976, Baker 1966) eine Erfassung des gesamten intravasalen Plasmavolumens im Vollblut (Bradley und Barr 1968) – ohne den Verdacht der Mutagenität wie beim Azoefarbstoff Evans-Blue (Nakane et al. 1988, Kornbrust und Barfknecht 1984). Gleichzeitig bestimmten wir das Erythrozytenvolumen mittels Markierung der Erythrozyten mit dem gesundheitlich weitgehend unbedenklichen Farbstoff Fluorescein-Natrium. Wir erfassten die markierten Erythrozyten durch den Einsatz eines Durchflusszytometers nach einer modifizierten Messmethode nach Lauermann (Lauermann 1991, Lauermann et al. 1994).

Es erwies sich dabei bereits in mehreren Studien unserer Forschungsgruppe (Jacob et al. 2003, Rehm et al. 2001¹, Rehm et al. 2001², Rehm et al. 2000¹) als großer Vorteil, dass die Methode zur Bestimmung des Plasmavolumens mit der Erythrozytenvolumen-Messung kombinierbar ist und somit bei simultaner Anwendung als so genannte „Double-Label-Messmethode“ eine exakte Quantifizierung des Blutvolumenstatus eines Menschen erlaubt. Dank der hohen Validität (Rehm et al. 1998², Schad et al. 1987, Lauermann et al. 1994) und Präzision (Rehm et al. 1998², Orth et al. 1998) der Double-Label-Messung und der raschen Wiederholbarkeit im klinischen Einsatz konnte in der vorliegenden Studie ein guter Einblick in die Veränderungen der Blutvolumina und die Volumenwirksamkeit der verwendeten Kolloide im Rahmen der ANH gegeben werden.

2 PATIENTEN UND METHODIK

2.1 Das Patientinnen-Kollektiv

2.1.1 Ziele

Das Patientinnen-Kollektiv umfasste insgesamt 20 Patientinnen, welche sich einer Operation nach Wertheim unterziehen mussten. Bei allen Patientinnen wurde eine **akute präoperative normovoläme Hämodilution (ANH)** durchgeführt. Als Plasmaersatzmittel diente bei 10 Patientinnen 5 %-**Humanalbumin** (= **HA-Gruppe**, n = 10), bei 10 Patientinnen 6 %-**Hydroxyethylstärke** (= **HES-Gruppe**, n = 10). Die Gruppenzugehörigkeit wurde bereits vor Beginn der Studie durch ein kontrolliertes Randomisierungsverfahren festgelegt. Untersucht wurde die Volumenwirkung von Albumin und HES. Dabei betrachteten wir, wie sich Erythrozytenvolumen (**Red Cell Volume = RCV**), Plasmavolumen (**PV**), der Ganzkörperhämatokrit (**Whole Body Hematocrit = WBH**), der peripherenöse Hämatokrit (**Hct**) und das Verhältnis von WBH zu Hct, der so genannte f-cell-Wert, bei ANH mit Albumin und, im Vergleich dazu, bei ANH mit HES verhalten. Dazu wurde bei allen Patientinnen vor, während und nach der Operation das PV mit dem Farbstoff **Indocyaningrün (ICG)** gemessen und das RCV durch **Fluorescein-Markierung** und **FACS (automated Fluorescent Activated Cell Sorting)**-Messungen bestimmt. Ein weiteres Ziel war es, durch genaue Kenntnis von RCV und PV bei großen Operationen mit hohem zu erwartendem Blutverlust Fremdbluttransfusionen einzusparen, um die damit verbundenen und bereits in der Einleitung erwähnten Risiken zu verringern. Von besonderem Interesse war die Frage, in welchem Maße die infundierten kolloidalen Lösungen im Gefäßbett gehalten wurden, und inwiefern es Unterschiede in der Plasmaproteinbilanz bei den beiden Kollektiven gab.

2.1.2 Charakterisierung des Patientinnen-Kollektivs

Die Patientenstudie wurde durch den Beschluss der Ethikkommission unserer Fakultät genehmigt. Die Patientinnen wurden bezüglich der möglichen Nebenwirkungen der Plasmavolumen- und Erythrozytenvolumenmessung am Tag vor der Operation eingehend aufgeklärt und gaben ihre Zustimmung zu den Messungen in Form einer Unterschrift ab.

Die Messungen fanden im Zeitraum Februar 1998 bis Mai 1999 statt. Insgesamt wurden 20 Patientinnen mit Zervixkarzinom untersucht. Bei allen Patientinnen wurde eine Operation nach Wertheim durchgeführt. Die Patientinnen waren zwischen 30 und 59 Jahre alt, wobei das mittlere Alter der HA-Gruppe bei $46,1 \pm 8,3$ Jahren, das der HES-Gruppe hingegen bei $39,1 \pm 8,1$ Jahren lag. Ihr Körpergewicht bewegte sich zwischen 49 und 114 kg und betrug im Mittel 72 ± 17 kg in der HA-Gruppe und 62 ± 13 kg in der HES-Gruppe. Die mittlere Körpergröße der HA-Gruppe lag bei 165 ± 3 cm, die der HES-Gruppe bei 166 ± 7 cm, wobei die Körpergrößen aller Patientinnen zwischen 159 und 176 cm lagen. Die hieraus errechnete Körperoberfläche (Gehan und George 1970) lag insgesamt im Mittel bei $1,762 \text{ m}^2$, bzw. bei $1,825 \text{ m}^2$ in der HA-Gruppe und bei $1,700 \text{ m}^2$ in der HES-Gruppe. Die einzelnen anthropometrischen Daten der Patientinnen sind den **Tabellen 2.1a** (HA-Gruppe) und **2.1b** (HES-Gruppe) zu entnehmen. Vergleicht man die beiden Gruppen bezüglich der anthropometrischen Daten, so zeigen sich nur geringfügige Unterschiede in Alter, Größe, Körpergewicht und BSA.

Tabelle 2.1a

Patientin (Nr.)	Alter (a)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BSA (m ²)
3	44	165	65	1,741
4	51	168	67	1,782
5	45	162	66	1,741
6	40	163	74,5	1,858
7	53	162	114	2,306
10	45	172	72	1,867
14	31	163	66	1,745
15	59	160	87	1,996
16	54	165	56	1,612
18	39	166	55	1,601
Mittelwert	46,1	165	72	1,825
Standardabw.	8,3	3	17	0,206
Min	31,0	160	55	1,601
Max	59,0	172	114	2,306

Tabelle 2.1a: Anthropometrische Daten der Patientinnen der HA-Gruppe in Form von Alter, Größe, Gewicht und BSA (BSA = Body Surface Area = Körperoberfläche)

Tabelle 2.1.b

Patientin (Nr.)	Alter (a)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BSA (m ²)
1	41	160	50	1,501
2	34	165	75	1,874
8	55	163	89	2,036
9	33	162	59	1,643
11	47	159	57	1,602
12	32	157	49	1,474
13	33	173	65	1,776
17	30	173	69	1,831
19	45	168	59	1,669
20	41	176	52	1,595
Mittelwert	39,1	166	62	1,700
Standardabw.	8,1	7	13	0,177
Min	30,0	157	49	1,474
Max	55,0	176	89	2,036

Tabelle 2.1b: Anthropometrische Daten der Patientinnen der HES-Gruppe in Form von Alter, Größe, Gewicht und BSA (BSA = Body Surface Area = Körperoberfläche)

2.2 Anästhesieverfahren

Bei allen 20 Patientinnen wurde eine Allgemeinanästhesie durchgeführt. Alle Patientinnen entsprachen der Stufe II der Klassifikation der American Society of Anesthesiology (ASA) und waren weder pulmonal noch kardial eingeschränkt. Nach oraler Prämedikation mit 7,5 mg Midazolam ca. eine Stunde vor Anästhesiebeginn erfolgte bei Eintreffen der Patientinnen im Anästhesievorbereitungsraum das Anlegen des EKG, die arterielle Blutdruckmessung nach Riva-Rocci und die Punktion einer peripheren Vene mit Einlegen eines Venenverweilkatheters. Bei allen Patientinnen wurde vor Einleitung der Narkose ein Periduralkatheter etwa auf Höhe Th 9/10 mit der „loss-of-resistance“-Technik gelegt. Die primär zur postoperativen Analgesie gedachte **Periduralanästhesie** (PDA) erfolgte jedoch erst nach Abschluss der ANH und der dazugehörigen RCV- und PV-Messungen mit 0,5 % Bupivacain und Fentanyl über eine Spritzenpumpe, wodurch eine Veränderung der Hämodynamik und der Blutvolumensituation unter ANH durch mögliche Effekte der Periduralanästhesie ausgeschlossen werden konnte. Die Allgemeinanästhesie wurde mit Fentanyl, Thiopental und dem nicht-polarisierendem Muskelrelaxans Cis-Atracurium eingeleitet. Nach orotrachealer Intubation erfolgte die kontrollierte Beatmung mit einem 50% Lachgas-Sauerstoffgemisch unter Aufrechterhaltung eines PaO_2 um 200-250 mmHg und PaCO_2 nahe bei 40 mmHg. Isoflurane wurde mit einer inspiratorischen Konzentration von 0,4 - 1,5 Vol.% appliziert. Nach Bedarf erfolgte die intraoperative Nachinjektion von Fentanyl und Cis-Atracurium. Das intraoperative Monitoring umfasste EKG, direkte arterielle Blutdruckmessung durch Kanülierung der Arteria radialis oder brachialis, periphere Pulsoxymetrie, ZVD-Messung nach Katheterisierung der Vena jugularis interna und ca. halbstündlich wiederholte Bestimmungen von Hämatokrit, Hämoglobin, PaO_2 , PaCO_2 , pH, Bicarbonat, Serumnatrium und Serumkalium aus arteriellem Blut im Operationstrakt (*Blutgasgerät ABL 300, Firma Radiometer Kopenhagen*).

2.3 Untersuchungsablauf

In **Tabelle 2.3** ist der zeitliche Ablauf unserer PV- und RCV-Messungen in Relation zum Fortgang von Anästhesie und Operation zusammengefasst.

Tabelle 2.3

OP-Verlauf		Zeiten (Mittelwert)	Messungen
Anlage des Periduralkatheters			
Narkoseeinleitung		rund 45 min	
		30 min	Doppelmessungen vor ANH PV-1a, Hct-1a, Prot-1a, RCV-1 PV-1b, Hct-1b, Prot-1b
Hämodilution		20 min	
Steady State		30 min	
			Einzelmessungen nach ANH PV-2, Hct-2, Prot-2, RCV-2, cHES-1
Periduralanästhesie			
Operation	Operationsbeginn		
			Einzelmessungen vor Retransfusion PV-3, Hct-3, Prot-3, cHES-2
	Retransfusion / Operationsende	30 min	
		30 min	postoperative Doppelmessungen PV-4a, Hct-4a, Prot-4a, cHES-3a, RCV-3, cHES _{Urin} PV-4b, Hct-4b, Prot-4b, cHES-3b
Extubation			

Tabelle 2.3: Zeitlicher Ablauf der Plasma- und Erythrozytenvolumenmessungen: PV = Plasmavolumen; RCV = Erythrozytenvolumen (Red Cell Volume); Hct = Hämatokrit; Prot = Plasmaproteinkonzentration; cHES = HES-Plasmakonzentration; cHES_{Urin} = HES-Konzentration im Urin; Zeitlicher Abstand zwischen den Messungen a und b der Doppelmessungen: 30 min.; Messungen der cHES-Werte nur bei der HES-Gruppe.

Sämtliche Messungen von RCV und PV, sowie ANH und Retransfusion fanden ausschließlich in hämodynamisch stabilen Phasen, also unter gleichbleibender Narkosetiefe und bei stabilen Kreislaufverhältnissen statt. Vor Beginn der ANH wurde auf

Applikation von Infusionslösungen jeglicher Art verzichtet. Etwa 45 Minuten nach Narkosebeginn begannen Doppelmessungen von Plasmavolumen (PV) mit Hilfe des Farbstoffs ICG, Hämatokrit (Hct) und Plasmaproteinkonzentration (Prot). Durch die PV-Messung wurde bei allen Patientinnen das Kontrollplasmavolumen PV-1 vor ANH ermittelt. PV-1 ist der Mittelwert von 2 PV-Messungen mit 30-minütigem Abstand (PV-1a und PV-1b). Simultan mit der Messung PV-1a fand die erste Bestimmung des Erythrozytenvolumens (RCV-1) als Einzelmessung statt. Aus technischen Gründen stehen die Ergebnisse der RCV-Messung erst nach ca. 2 Stunden zur Verfügung, wohingegen das PV-Ergebnis bereits 10 Minuten nach Farbstoffinjektion am Untersuchungsort bestimmt werden kann.

Im Anschluss an diese Bestimmungen begann die ANH mit Blut-Entzug in einer Geschwindigkeit von etwa 60 ml/min. und simultaner Substitution von 5 %-Albuminlösung (HA-Gruppe; n = 10; *Centeon Pharma GmbH, Marburg*) oder 6 %-Hydroxyethylstärke (HES-Gruppe; n = 10; Molekulargewicht: 200.000 ± 25.000 , Substitutionsgrad: 0,5; *Fresenius AG, Bad Homburg*) in etwa derselben Geschwindigkeit. Wichtigste Ziele dabei waren zum einen die möglichst exakte Annäherung an den **Ziel-Hämatokrit von 22 Vol.%** und zum anderen die **Infusion von 15 % mehr an Kolloid** als Blutentzug in beiden Gruppen. Um den Ziel-Hct zuverlässig zu erreichen, dienten als wichtige Anhaltspunkte Größe, Gewicht, Körperoberfläche der Patientinnen, sowie bereits auf der Station gemessene Hämatokritwerte und das Ergebnis der kurz zuvor stattgehabten PV-Doppelmessungen. Zudem erfolgten während der laufenden ANH mehrere Bestimmungen der aktuellen Hb-Konzentrationen mit Hilfe des Blutgasgerätes. Dabei kam folgende Faustregel zur Anwendung:

$$\text{Hct} = \text{Hb} \times 3$$

Nach einem initialen Blutentzug von ca. 500 ml/m² wurde der Hct bei jeder Patientin, insbesondere gegen Ende der ANH, mehrmals bestimmt. Durch die exakte Bestimmung der entzogenen Blutmenge mittels einer Präzisionswaage (*Electronic Balance MP-300, Chyo Balance Corp., Japan*) (ca. 450 ml Vollblut pro Hämodilutionsbeutel) konnte somit eine um 15 % höhere Kolloidmenge (ca. 90 ml /min.) appliziert werden. Zur späteren Bilanzierung vor Retransfusion wurde aus den Hämodilutionsbeuteln der Hct

und die Plasmaproteinkonzentration (Prot) bestimmt. Die Gesamtdauer der ANH belief sich insgesamt auf etwa 20 Minuten.

Nach Abschluss der ANH wurde ein Steady-State-Intervall von 30 Minuten ohne weitere Infusion eingelegt. Daraufhin folgte die simultane Bestimmung von PV-2, RCV-2, Hct-2 und Prot-2 nach abgeschlossener ANH mit anschließendem Transfer der Patientin in den Operationssaal. Zusätzlich wurde bei der HES-Gruppe die HES-Plasmakonzentration (cHES) bestimmt. Im Anschluss an die Messungen erfolgte die Injektion von 0,1 mg Fentanyl und 15 ml Bupivacain 0,5 % in den Periduralkatheter (mit stündlicher intraoperativer Nachinjektion von 3 ml Bupivacain 0,5 %). Die Operation begann etwa 10 Minuten später nach Durchführung der üblichen Vorbereitungsmaßnahmen (Desinfektion, Abdecken).

Mit Operationsbeginn bis zum Zeitpunkt der Retransfusion erfolgte die kontinuierliche Infusion von 0,9 %iger Kochsalzlösung. Nach der Gleichung

$$\text{Zielmenge der Kristalloidinfusion} = \text{geschätzter Blutverlust} \times 5 + \text{Urinproduktion}$$

wurde die Menge der intraoperativen Kristalloidinfusion dem aktuellen Blutverlust und der Urinproduktion angepasst. Durch visuelle Abschätzung des Blutverlustes (Saugerinhalt, OP-Tüchern, Tupfer), sowie sorgfältige Dokumentation der hämodynamischen Parameter (ZVD, arterieller Mitteldruck, Herzfrequenz) und der infundierten Kristalloid- und Kolloidvolumina, konnten Zeichen der Hypovolämie bei 3 Patientinnen der Albumingruppe mit Infusion von zusätzlichen 250 ml des entsprechenden Kolloids therapiert werden.

Als intraoperativer Retransfusionstrigger war ein Hämatokrit von 18 Vol.% festgelegt worden. Bei Erreichen dieses Hct-Wertes steigerten wir die FiO₂ auf 1,0, um die Menge an physikalisch gelöstem Sauerstoff zu erhöhen. In den meisten Fällen fand die Retransfusion in einer späten Operationsphase statt, nachdem der größte Blutverlust bereits vorüber war. In 8 Fällen wurde der Retransfusionstrigger nicht erreicht (n = 5 in der HA-Gruppe; n = 3 in der HES-Gruppe). Bei diesen Patientinnen wurde am Operationsende bei Verschluss des Abdomens ebenfalls das gesamte autologe ANH-

Blut retransfundierte. Unmittelbar vor Retransfusion wurden bei jeder Patientin Einfachmessungen des PV (PV-3), Hct, Prot, und - nur bei der HES-Gruppe - des cHES durchgeführt. Aus arbeitstechnischen Gründen war eine RCV-Bestimmung zu diesem Zeitpunkt unmöglich.

Am Operationsende führten wir eine abschließende Doppelmessung des PV-4 (PV-4a und PV-4b im Abstand von 30 Minuten), des Hct, Prot, cHES (cHES-3a und cHES-3b nur bei der HES-Gruppe) und, simultan mit der PV-4a-Messung, die Bestimmung von RCV-3 durch. Die Messungen erfolgten in einer Phase stabiler Anästhesie ohne offensichtlichen Blutverlust nach Verschluss des Abdomens. Abschließend entnahmen wir in der HES-Gruppe Urinproben zur HES-Bestimmung (cHES_{Urin}). Dann folgte die Beendigung der Narkose und, nach Extubation, die Verlegung der Patientin in den Aufwachraum und später auf die Wachstation.

2.4 Messmethodik

2.4.1 Bestimmung des Erythrozytenvolumens mit Fluorescein und der FACS-Methode

Fluorescein-Natrium ist ein Dinatrium-Salz des Fluoresceins mit der Summenformel $C_{20}H_{10}O_5Na_2$. Die Strukturformel zeigt **Abb. 2.1**.

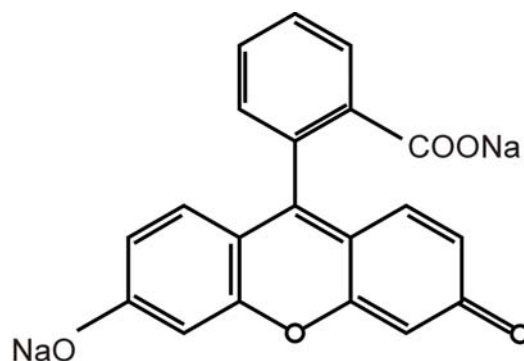


Abb. 2.1: Strukturformel von Fluorescein-Natrium

Das Molekulargewicht des Fluoresceins beträgt 376 Dalton. Die bezeichnende Eigenschaft ist die Fluoreszenz. Darunter wird die Fähigkeit verstanden, nach Einwirkung von kurzwelligem Licht, langwelliges Licht in einem charakteristischen Spektralbereich zu emittieren. Fluorescein-Natrium ist eine schwache Säure. Gibt man das Dinatrium-Salz in eine wässrige Lösung mit physiologischem pH-Wert, liegt es in dissoziierter Form vor. Dabei zeigt es bei 485-500 nm das Maximum der Lichtabsorption, die sogenannte Exzitation der Fluoreszenz. Das Maximum der Emission liegt bei 530 nm (Romanchuk 1982). **Abb. 2.2** zeigt das Exzitations- und das Emissionsspektrum von Fluorescein.

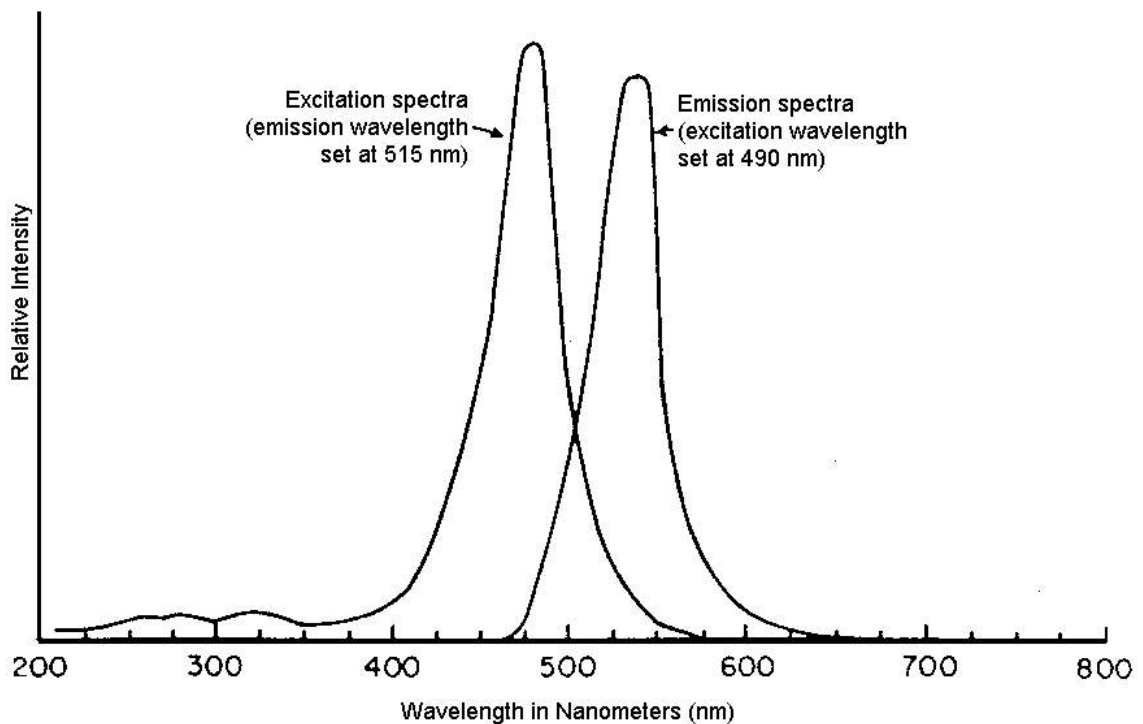


Abb. 2.2: Exzitations- und Emissionsspektrum von Fluorescein

In der Leber wird die Substanz zu Fluoresceinmonoglucuronid metabolisiert und über die Niere ausgeschieden. Freies Fluorescein wird im Plasma zum überwiegenden Teil an Albumin gebunden. Die Halbwertszeit von Fluorescein wird mit 23,5 Minuten, die des schwächer fluoreszierenden Fluoresceinglucuronid mit 264 Minuten angegeben (Blair et al. 1986). Über die Pharmakokinetik von an Erythrozyten gebundenem Fluorescein liegen unserem Wissen nach bisher keine systematischen Untersuchungen vor.

Fluorescein wurde 1882 von P. Ehrlich in die Ophthalmologie eingeführt (Ehrlich 1882). Seit 1961 ist Fluorescein ein wichtiges Diagnostikum zur Erkennung verschiedener Augenhintergrundsveränderungen und –Erkrankungen (Novotny und Alvis 1961). Im Gegensatz zur intravenösen Augenhintergrund-Darstellung wird jedoch bei der RCV-Bestimmung nur 7,5 % der Menge an Fluorescein benötigt.

Die Markierung der Erythrozyten erfolgte nach der modifizierten Methode nach Lauer mann, der dazu Neubauer-Zählkammern verwendete, in denen die Zellen unter dem Fluoreszenzmikroskop in markierte und unmarkierte differenziert und ausgezählt wurden (Lauer mann 1991, Lauer mann et al. 1994). Wir verwendeten für diese Unterscheidung ein Durchflusszytometer (*FACScan, Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, California, USA*). Der Durchflusszytometer wird auch als "FACS" (Fluorescent Activated Cell Sorting) bezeichnet und hat den Vorteil, dass im Vergleich zum Auszählen unter dem Fluoreszenzmikroskop wesentlich mehr Zellen in sehr kurzer Zeit analysiert werden können. Mit dieser FACS-Methode haben wir bei unserem Patientenkollektiv das exakte tatsächliche Erythrozytenvolumen (Erythrozytenvolumen = **Red Cell Volume** = RCV) quantifiziert. Dabei wurden zunächst autologe Erythrozyten ex vivo unter sterilen Bedingungen mit dem Farbstoff Fluorescein-Natrium markiert, dann eine definierte Menge dieser markierten autologen Erythrozyten reinjiziert und, nach kompletter Durchmischung in der Blutbahn, ihr Anteil an der Gesamtzahl der Erythrozyten der Patientin mittels Durchflusszytometer bestimmt.

Pro Markierung bzw. RCV-Bestimmung wurden 30 ml Patientenblut entnommen. Diese Menge ist so gewählt, dass sich nach Reinjektion eine genügend große Anzahl markierter Erythrozyten in der Zirkulation befindet. Andererseits soll der dadurch entstehende Blutverlust klein sein im Verhältnis zum Gesamterthrozytenvolumen, um keinen relevanten Einfluss auf die Messergebnisse zu nehmen. Um die Gerinnung des entnommenen Bluts während des Untersuchungszeitraumes zu verhindern, wurde es in einer heparinisierten Spritze aufgezogen.

Die Markierung der Erythrozyten wurde folgendermaßen durchgeführt:

Bei allen folgenden Schritten wurde strikte Sterilität gewahrt. Das entnommene leicht heparinisierte venöse Blut (30 ml) wurde in ein steriles 50 ml Schraubgefäß überführt und im Labor mit der Varifuge (3,0 R Heraeus Sepatech GmbH, Osterode, BRD) bei 21°C mit einer Beschleunigung von 2300 Umdrehungen 5 Minuten lang zentrifugiert. Anschließend wurde der Plasmaüberstand mit einem sterilen Teflon-Venenverweilkatheter der Größe 13 G abgezogen und verworfen. Dann wurden die im Schraubgefäß zurückgebliebenen korpuskulären Anteile mit 6 ml einer Fluorescein-Calciumlösung pro 30 ml Patientenblut versetzt und fünf Minuten lang durch leichtes Drehen bei Raumtemperatur vermischt. Die 10 %ige Fluorescein-Lösung (*Fluorescein-Natrium 10 % Fa. Alcon, Pharma GmbH Freiburg, BRD*) enthält pro 1 ml Lösung 113,2 mg Fluorescein-Dinatriumsalz (entsprechend 100 mg Fluorescein pro ml). Von dieser Fluorescein -Lösung vermischten wir 0,6 ml mit 9 ml Calciumlösung (*Calcium Braun 10 %, Fa. Braun, Melsungen AG, BRD*). Von dieser zusammengesetzten Fluorescein-Calcium-Lösung wurden 2 ml pro 10 ml Patientenblut zugesetzt, sodass man 6 ml dieser Lösung auf 30 ml Patientenvollblut erhielt. Es kamen also auf die 30 ml Patientenblut 37,5 mg Fluorescein (0,6 ml Fluoresceinlösung enthalten 60 mg Fluorescein → aufgelöst in 9 ml Calciumlösung ergibt das 12,5 mg Fluorescein pro 2 ml Lösung).

Danach wurde die Patientenblut-Fluorescein-Calciumlösung wie oben beschrieben zentrifugiert und der dabei entstehende Plasmaüberstand erneut steril abgezogen. Um den Anteil des extraerythrozytären Farbstoffes möglichst vollständig zu eliminieren, wurden die Erythrozyten noch zweimal mit jeweils 15 ml Calciumlösung vorsichtig durchmischt, gewaschen und, zur Abtrennung des jeweiligen Überstandes, mit der Varifuge zentrifugiert. Nach der zweiten Waschung mit steriler Überstandabsaugung wurden die korpuskulären Anteile mit Ringer-Lactat-Lösung (*Ringer-Lactat DAB 7, Fa. Braun, Melsungen , BRD*) auf 32 ml aufgeschwemmt. Davon wurden 2 ml der markierten Zellsuspension zur Bestimmung des Hämatokrits und der Erythrozytenanzahl in ein EDTA-Röhrchen aufgezogen, sodass wir wieder auf unsere ursprünglichen 30 ml Patientenblutlösung kamen. Diese 30 ml markierte „Rote-Zell-Suspension“ wurde

anschließend unter sterilen Bedingungen auf zwei 20 ml Einmalspritzen aufgezogen. Die Spritzen wurden samt Inhalt mit der Präzisionswaage gewogen. Die Zeit für das Markieren der Erythrozyten belief sich insgesamt auf etwa eine Stunde. Zu den genannten Messzeitpunkten RCV-1, RCV-2 und RCV-3 wurde der Patientin diese „Rote-Zell-Suspension“ langsam zentralvenös injiziert.

Aus dem „nicht-kontaminierten“ Schenkel des ZVK wurde 4, 6 und 8 Minuten nach Injektion jeweils Blut in ein EDTA-Röhrchen entnommen und in Eiswasser gestellt. Im Durchflusszytometer (FACS) wurde aus diesem Blut der Anteil der markierten, fluoreszierenden Erythrozyten an der Gesamtzahl der patienteneigenen Erythrozyten bestimmt. Das Leergewicht der zwei 20 ml Einmalspritzen wurde anschließend im Labor mittels Präzisionswaage gewogen.

Grundvoraussetzung zur Messung mit dem FACS ist das Vorliegen der Probe als Einzelsuspension in einer Konzentration von maximal 20×10^6 Zellen pro ml. Normwerte für Erythrozyten betragen im menschlichen Blut $3,8 - 5,2 \times 10^9$ / ml bei Frauen bzw. $4,4 - 5,9 \times 10^9$ / ml bei Männern. Deshalb mussten die Blutproben für eine optimale Analyse mit dem FACS um den Faktor 1 : 12.500 verdünnt werden.

Herstellung der Verdünnungsstufe Zellzählung im FACS:

Dazu wurden zunächst 100 µl EDTA-Blut der ersten Blutentnahme (nach 4 Minuten) in 25 ml Hank'sche Lösung (*Hank'sche Lösung ohne Phenolrot 500 ml, Apotheke Klinikum Innenstadt, München, BRD*) gemischt ($\Rightarrow 1/250$) und auf Eis gestellt. Aus dieser Hank'schen Blutlösung kamen 20 µl in ein mit 1000 µl Hank'scher Lösung ($\Rightarrow 1/50$) gefülltes Reagenzglas zur entgültigen durchflusszytometrischen Zellzählung. Die Zellsuspension war damit 1 zu 12.500 verdünnt ($\Rightarrow 1/250 \times 1/50 = 1/12.500$) und wurde dreimal mit dem FACS gemessen. Ebenso verfahren wir mit dem nach 6 und nach 8 Minuten entnommenen Blut, sodass wir insgesamt ($3 \times 3 =$) 9 Einzelmessungen zur Ermittlung des RCV pro Patientin erhielten. Jede Einzelmessung mit dem FACS bestimmte unter einer Gesamtmenge von 50.000 Erythrozyten die Anzahl der markierten Erythrozyten. Das heißt, dass insgesamt 450.000 Erythrozyten zur RCV-Bestimmung ausgezählt wurden. **Abb. 2.3** veranschaulicht den Aufbau des Durchflusszytometers.

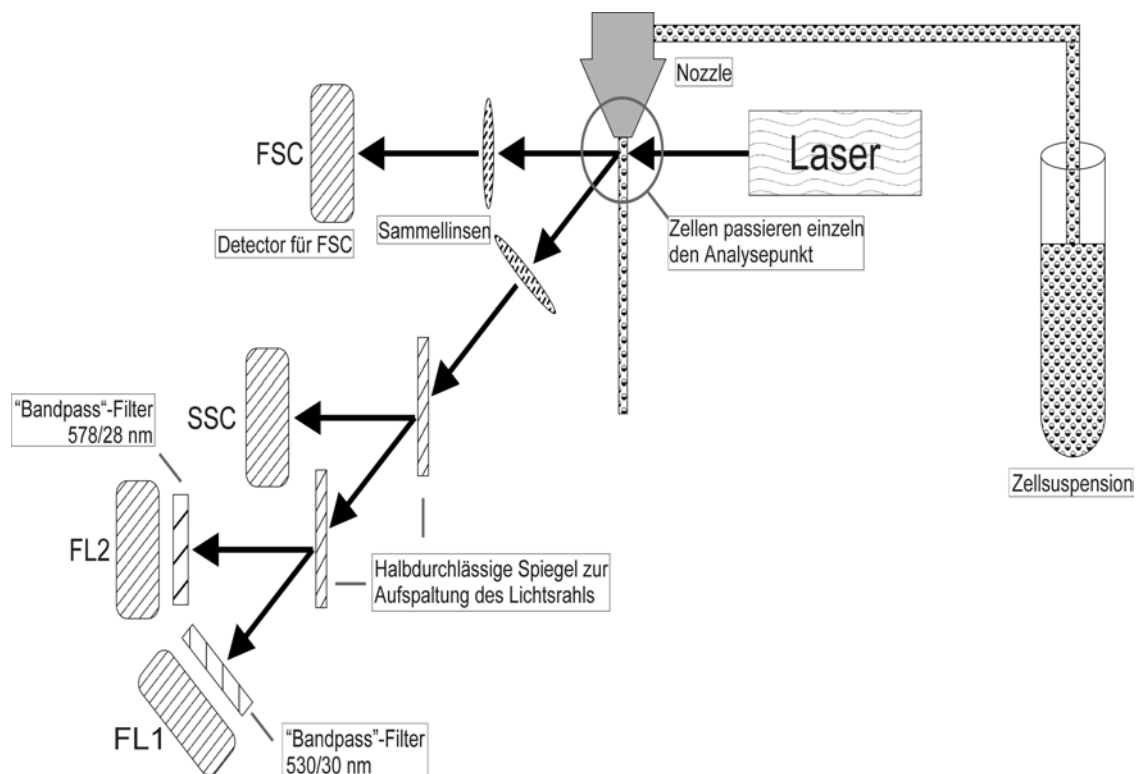


Abb. 2.3: Schematischer Aufbau des Durchflusszytometers (aus: Methoden der diagnostischen Hämatologie; H. Huber, H. Löffler, V. Faber (Hrsg.); 1994; Springer Verlag, Berlin)

Die Zellsuspension wird aus einem Reagenzröhrchen in die Messküvette angesaugt. Die Zellen passieren einzeln den Analysepunkt, wo ein Laserstrahl auf sie trifft. Beim Auftreffen wird der Lichtstrahl gestreut. Zur Lichtstreuung tragen Zellgröße, Zellform, Zellmembran, Zellkern und intrazelluläre granuläre Bestandteile bei. Das Licht wird nicht in alle Richtungen gleichmäßig gestreut. Der größte Anteil wird in die Vorwärtsrichtung entlang des einfallenden Lichtstrahles gestreut. Es wird als Vorwärtsstreulicht (FSC = forward light scatter) bezeichnet und ist überwiegend ein Maß für die Zellgröße. Kleine Zellen streuen weniger Licht als große.

Das im rechten Winkel zum einfallenden Laserstrahl streuende Licht wird als Seitwärtsstreulicht (SSC = side scatter) bezeichnet. Es hängt vor allem von der Zelldichte und den granulären Bestandteilen, weniger von der Zellgröße ab. Die Wellenlänge des auftreffenden Lichtstrahles wird durch die Zelle an sich nicht verändert. Sie verändert sich jedoch, wenn man fluoreszierende Verbindungen verwendet. Wie für das Fluorescein in **Abb. 2.2** gezeigt, absorbieren diese Substanzen Energie in einem für sie charakteristischen Wellenlängenbereich (Absorptionsspektrum) und emittieren langwelligeres, energieärmeres Licht (Emissionsspektrum). Bei einer geeigneten Anregungswellenlänge ist das Fluoreszenzsignal proportional zur Farbstoffmenge. Somit können fluoreszenzmarkierte Erythrozyten leicht von unmarkierten unterschieden werden. Für jede Zelle, die den Laserstrahl passiert, wird das Streulicht und das emittierte Fluoreszenzlicht durch Detektoren gemessen und in ein elektronisches Signal umgewandelt. Dieses wird verstärkt und am Computer sichtbar gemacht.

Es gibt drei unterschiedliche Fluoreszenzkanäle (FL1, FL2 und FL3), die passend zu unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen, unterschiedliche Emissionswellenlängen darstellen können. Bei der vorliegenden Untersuchung wurde nur der erste Fluoreszenzkanal (FL1) verwendet, der Emissionen um 520 nm darstellt. In **Abb. 2.2** ist zu erkennen, dass das Emissionsmaximum von Fluorescein nahe bei 520 nm liegt.

Die Einstellungen der relevanten Kanäle zeigt **Tabelle 2.4**.

Kanal	Datenmodus	Detektor	Verstärker
FSC	linear	E00	2,82
SSC	linear	300	5,00
FL1	logarithmisch	550	entfällt
FL2	logarithmisch	550	entfällt
FL3	logarithmisch	450	entfällt

Tabelle 2.4: Einstellungen am Durchflusszytometer (FACS)

Die ermittelten Daten bezüglich FL1 konnten nun in einem Histogramm dargestellt werden (schematisch in **Abb. 2.4**). Auf der x-Achse ist die Fluoreszenzintensität logarithmisch aufgetragen. Je mehr Fluorescein eine Zelle trägt, umso höher ist ihre Fluoreszenzintensität. Die y-Achse zeigt die Anzahl der Zellen gleicher Fluoreszenzintensität. In jeder einzelnen Probe wurden 50.000 Zellen analysiert und die markierten Erythrozyten von den unmarkierten unterschieden.

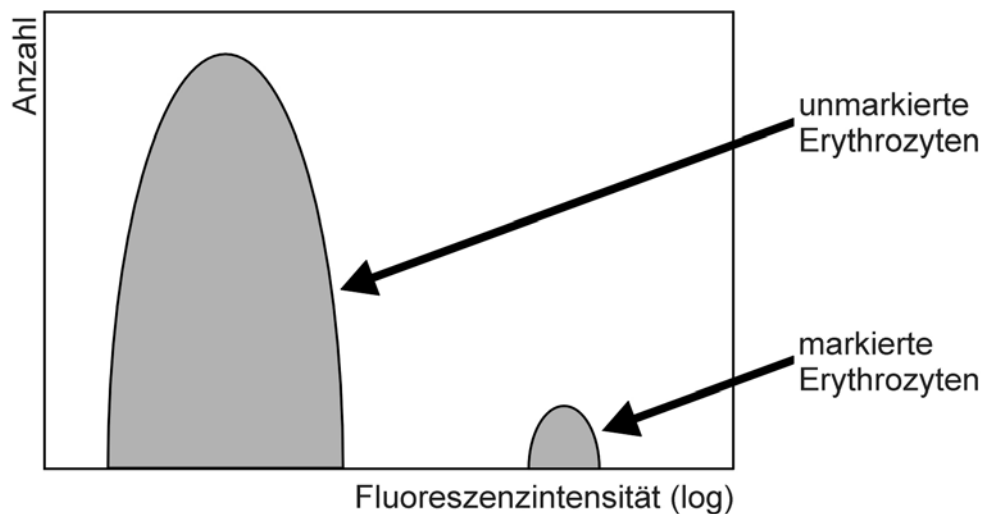


Abb. 2.4: Schematisches Histogramm von FL1

Die **Abb. 2.4** zeigt schematisch die Fluoreszenzintensitäten der 50.000 untersuchten Zellen. Dabei stellt der große Peak links die große Masse unmarkierter Erythrozyten mit einer geringen Fluoreszenzintensität dar. Es handelt sich dabei um die Autofluoreszenz der Erythrozyten. Der kleine Peak rechts besteht aus den markierten Erythrozyten mit entsprechend hoher Fluoreszenzintensität. Die beiden Peaks ließen sich immer ohne Überlappung voneinander abgrenzen. Um den kleinen Peak besonders gut darzustellen

und abzugrenzen wurde er vergrößert, sodass der große Peak ganz an den linken Rand rutschte (schematisch in **Abb. 2.5**).

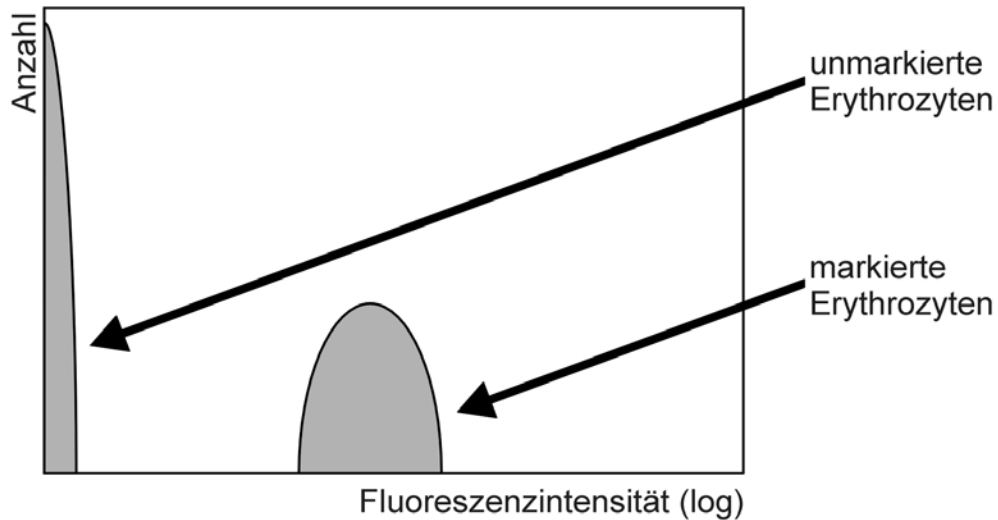


Abb. 2.5: Vergrößerung des Peaks der markierten Erythrozyten

Nun wurden von Hand zwei Grenzlinien eingefügt, zwischen denen alle Zellen vom Computerprogramm als markiert gezählt wurden (**Abb. 2.6**). Dabei wurde die rechte Begrenzung ganz an den Rand der Fluoreszenzintensitäts-Skala gesetzt. Die Anzahl der Zellen innerhalb der Grenzlinien stellt die Menge der markierten Erythrozyten bezogen auf 50.000 gezählte dar.

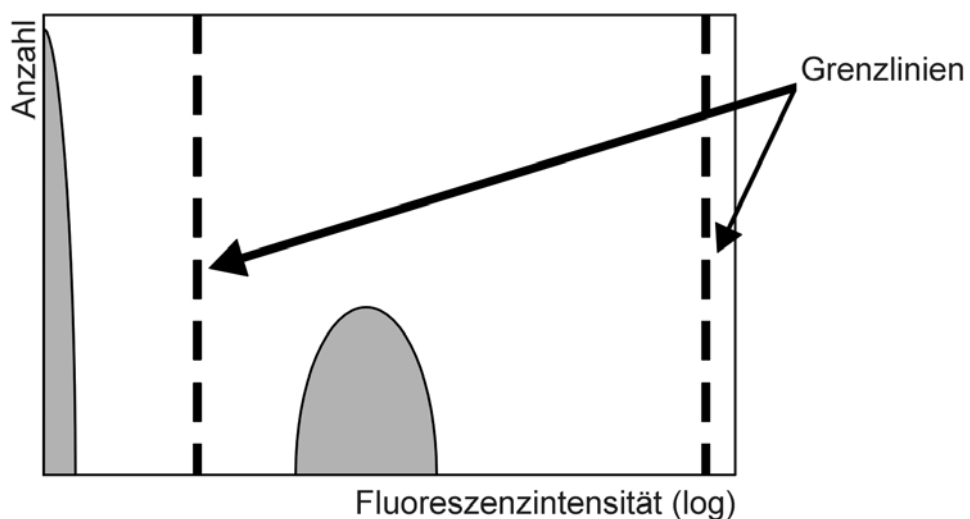


Abb. 2.6: Einzeichnen der Grenzlinien

Die **Abb. 2.7** und **2.8** sind Originalgraphiken, die von der Software des Durchflusszytometers (FACS) erstellt wurden. Sie zeigen die Analyse zweier Blutproben des gleichen Patienten vor und nach Injektion einer Suspension von markierten Erythrozyten. Es ist der Fluoreszenzkanal 1 (FL1) dargestellt. Auf der x-Achse ist die Fluoreszenzintensität logarithmisch aufgetragen. Die y-Achse zeigt die Anzahl der Zellen mit einer bestimmten Fluoreszenzintensität. Während man vor der Injektion der gefärbten Erythrozyten (**Abb. 2.7**) oberhalb einer Intensität von 10^2 keine Zellen findet, erkennt man nach der Injektion einen eindeutig abgrenzbaren Peak von markierten Zellen (**Abb. 2.8**).

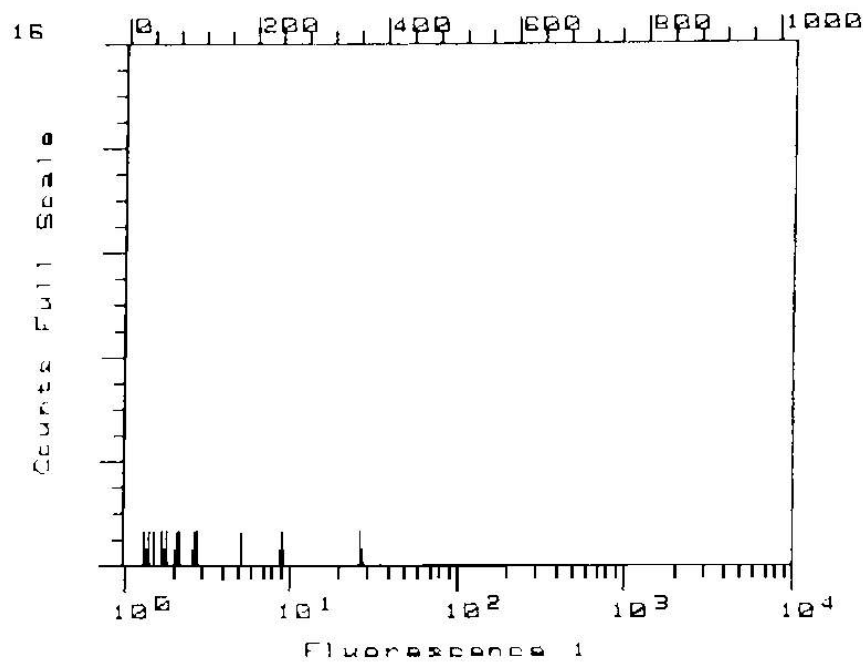


Abb. 2.7: FACS-Graphik von Blut ohne markierte Erythrozyten

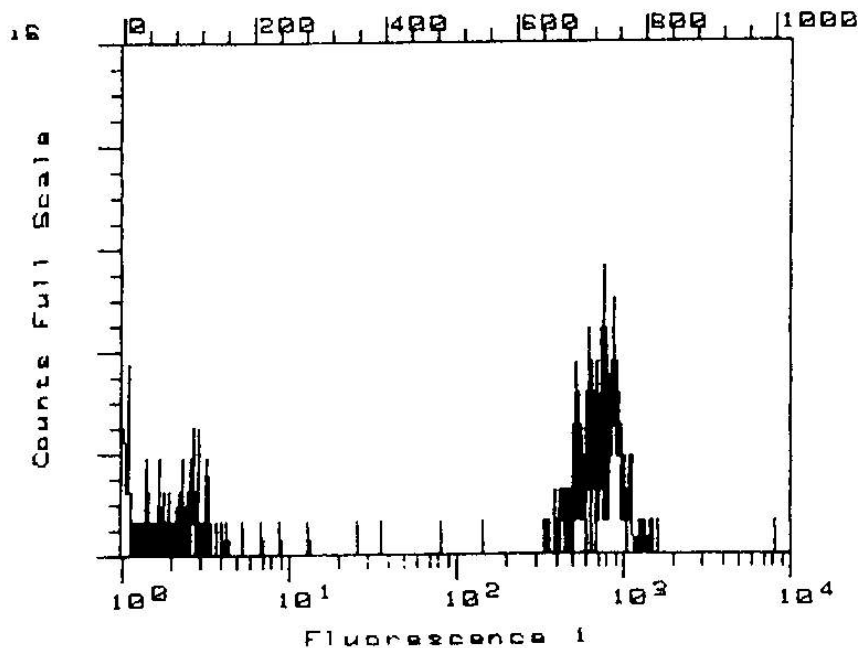


Abb. 2.8: FACS-Graphik von Blut mit markierten Erythrozyten

Als Beispiel:

Der Peak enthielt 400 fluoreszenzmarkierte Erythrozyten. Da insgesamt 50.000 analysiert wurden erhielt man den Verdünnungsfaktor (F_{RCf} = Fraktion der fluoreszierenden Red Cells) als Verhältnis von markierten zu unmarkierten Erythrozyten:

$$F_{RCf} = 400/50.000 = 0,008$$

Da insgesamt 9 Einzelmessungen à 50.000 Zellen analysiert wurden, also insgesamt 450.000 Erythrozyten ausgezählt wurden, ergab sich der Verdünnungsfaktor aus der mittleren Anzahl markierter Erythrozyten pro 50.000. Dieser Verdünnungsfaktor (F_{RCf}) ging in die Berechnung des RCV mit ein.

Aus den Messergebnissen errechnete sich das RCV wie folgt:

Die zwei 20 ml Einwegspritzen, auf die die markierte Erythrozytensuspension (30 ml) aufgeteilt worden war, wurden vor und nach Injektion mit der Präzisionswaage gewogen. Die Differenz entsprach der injizierten Menge an markierten Erythrozyten in Gramm. Die Masse des Injektats in Gramm wurde dem Volumen des Injektats (V_i) in Milliliter gleichgesetzt.

Als Beispiel:

$$\begin{array}{rcll} 50 \text{ g} & = & \text{markierte Erythrozyten vor Injektion (Vollgewicht)} & \\ 20 \text{ g} & = & \text{Leergewicht der beiden 20 ml Einmalspritzen nach Injektion} & \\ \downarrow \quad \downarrow & & \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow & \\ 30 \text{ g} & = & \text{Reingewicht der markierten injizierten Erythrozyten} & \\ & & \text{(spezifisches Gewicht 1,0)} & \\ & = & \mathbf{30 \text{ ml}} \text{ Volumen des Injektats } (V_i) & \end{array}$$

Mit dem Coulter Counter (*Coulter STKR, Coulter Electronics, Miami, FL*) aus unserem Notfalllabor wurde die Erythrozytenanzahl des Injektats (RC_i) pro ml markierter Zellsuspension bestimmt.

Die Gesamtzahl der injizierten Erythrozyten erhält man, indem man das injizierte Volumen (V_i) in ml mit der Anzahl Erythrozyten pro ml Injektat (RC_i) multipliziert. Der Verdünnungsfaktor (F_{RCf}) wurde mit dem Durchflussszytometer (FACS) aus dem Mittelwert der Anzahl der markierten Erythrozyten pro 50.000 in 9 Einzelmessungen Zellen ermittelt. Durch Division der Gesamtzahl der injizierten Erythrozyten ($V_i \times RC_i$) durch den Verdünnungsfaktor (F_{RCf}) erhält man die Gesamtzahl aller Erythrozyten der Patientin.

Nun erfolgte die Berechnung des mittleren zellulären Volumens (MCV) der Erythrozyten der Patientin, indem der Hämatokrit durch die Erythrozytenanzahl pro ml geteilt wird. Der mittlere Hämatokrit (Hct_p) und die mittlere Erythrozytenanzahl (RC_p) wurde jeweils aus den 4, 6 und 8 Minuten nach Injektion gewonnenen gleichen Blutproben

bestimmt. Hct_p ist der Zentrifugenhämatokrit unseres Forschungslabors, der mittels Dreifachmessung der Hämatokritzentrifuge (*Fa. Hawksley, Lancing (Sussex), GB; Zentrifugierzeit 4 Minuten, Radius 15 cm, 12.000 Umdrehungen pro Minute*) bestimmt und mit der Schieblehre abgelesen wurde. Eine Korrektur für plasma trapping erfolgte nicht. Unter plasma trapping versteht man die Tatsache, dass die Erythrozytensäule der Hämatokritkapillare immer einen geringen Anteil Plasma enthält (Chaplin u. Mollison 1952). Die Erythrozytenanzahl (RC_p) pro ml Vollblut wurde mit dem *Coulter Counter* (siehe oben) von unserem Notfalllabor bestimmt.

$$MCV = Hct_p / RC_p$$

Durch Multiplikation der Gesamtzahl aller Erythrozyten ($RC_i \times V_i / F_{RCf}$) im Patienten mit dem mittleren zellulären Volumen (MCV) pro Erythrozyt ergibt sich das Erythrozytenvolumen (RCV). Diese Berechnung in Einzelschritten lässt sich in einer Formel zusammenfassen als:

$$RCV (ml) = (RC_i \times V_i \times Hct_p) / (F_{RCf} \times RC_p)$$

wobei über die Anzahl der markierten und injizierten Zellen ($RC_i \times V_i$) und den Verdünnungsfaktor (F_{RCf}) die Anzahl sämtlicher Erythrozyten der Patientin festgelegt werden und diese werden dann mit dem mittleren zellulären Volumen (MCV) pro Erythrozyt multipliziert, um das Volumen sämtlicher Erythrozyten zu erhalten.

Die bisher verwendeten Abkürzungen und die Herkunft einzelner Parameter fasst **Tabelle 2.5** noch einmal zusammen.

Tabelle 2.5

Abkürzungen	Parameter	Herkunft der einzelnen Parameter
V_i [ml]	Volumen der injizierten Zellsuspension (Injektat)	Differenz der gewogenen 20 ml Spritzen vor und nach Injektion
RC_i [$\times 10^9$ /ml]	Zahl der injizierten Erythrozyten pro ml der markierten Zellsuspension	Messung des dem Injektat entnommenen EDTA-Röhrchens mit dem Coulter Counter im Notfalllabor
$V_i \times RC_i$	Gesamtzahl der injizierten Erythrozyten pro ml Injektat	
F_{RCf}	Verdünnungsfaktor (Fraktion der fluoreszierenden Erythrozyten)	ermittelt am FACS (mittlere Anzahl gezählter markierter Erythrozyten pro 50.000 Zellen in 9 Einzelmessungen)
$V_i \times RC_i / F_{RCf}$	Gesamtzahl aller Erythrozyten im Patienten	
Hct_p [Vol%]	Hämatokrit im arteriellen Patientenblut	Dreifachmessung der Blutproben (4, 6, 8 min. nach Injektion) mittels Zentrifuge im Forschungslabor
RC_p [$\times 10^9$ /ml]	Zahl der Erythrozyten im arteriellen Patientenblut	Messung der Blutproben (4, 6, 8 min. nach Injektion) mit dem Coulter Counter im Notfalllabor
MCV [$\times 10^{-11}$ /fl]	mittleres zelluläres Volumen der Erythrozyten	$MCV = Hct_p / RC_p$
RCV [ml]	Erythrozytenvolumen	$RCV = (RC_i \times V_i \times Hct_p) / (F_{RCf} \times RC_p)$

Tabelle 2.5: Abkürzungen und Herkunft der verwendeten Parameter zur RCV-Berechnung

Rechenbeispiel zur Verdeutlichung:

Einer Patientin wurden 30 ml markierte Zellsuspension (V_i) mit 3×10^9 Erythrozyten pro ml (RC_i) injiziert. Die Gesamtzahl der Erythrozyten pro ml Injektat ($V_i \times RC_i$) belief sich auf:

$$V_i \times RC_i = 30 \text{ ml} \times 3 \times 10^9 / \text{ml} = \mathbf{9 \times 10^{10}}$$

Das Durchflusszytometer fand nach Injektion der markierten Suspension im Mittel 450 gefärbte Erythrozyten unter 50.000 gezählten im Blut der Patientin. Als Verdünnungsfaktor (F_{RCf}) ergab sich also:

$$F_{RCf} = 450 / 50.000 = 0,009 = \mathbf{9 \times 10^{-3}}$$

Nun wurde die Gesamtzahl der Erythrozyten pro ml Injektat 9×10^{10} durch den Verdünnungsfaktor 9×10^{-3} geteilt, um die Gesamtzahl der Erythrozyten der Patientin zu erhalten.

$$V_i \times RC_i / F_{RCf} = 9 \times 10^{10} / 9 \times 10^{-3} = \mathbf{1 \times 10^{13}}$$

Der mittlere Hämatokrit (Hct_p) der 4, 6 und 8 Minuten nach der Injektion entnommenen Blutproben betrug 26 Vol.% (entspricht 0,26 als Dezimalzahl). Die dazu gehörige mittlere Erythrozytenzahl (RC_p) belief sich auf $2,8 \times 10^9 / \text{ml}$. Das mittlere zelluläre Volumen (MCV) betrug demnach:

$$MCV = 0,26 / 2,8 \times 10^9 / \text{ml} = \mathbf{9,29 \times 10^{-11} \text{ ml}} (= 92,9 \text{ fl})$$

Schließlich wurde die Gesamtzahl der Erythrozyten (1×10^{13}) mit dem MCV ($9,29 \times 10^{-11} \text{ ml}$) multipliziert, um das RCV der Patientin zu erhalten:

$$RCV = 1 \times 10^{13} \times 9,29 \times 10^{-11} \text{ ml} = \mathbf{929 \text{ ml}}$$

Die Patientin hatte also ein Erythrozytenvolumen von 929 ml.

2.4.2 Hämatokrit- und Proteinbestimmung

Die Ermittlung des Hämatokrits erfolgte in unserem Forschungslabor durch Dreifachmessung mit einer Hämatokritzentrifuge (*Hämatokritzentrifuge der Fa. Hawksley, Lancing (Sussex), GB, Zentrifugierzeit 4 Minuten, Radius 15 cm bei 12.000 Umdrehungen pro Minute, keine Korrektur für „trapped plasma“*) und anschließendem Ablesen mit der Schublehre.

Das Gesamteiweiß wurde mittels Biuretmethode photometrisch bestimmt (*Gerät: PCP 6121 Fa. Eppendorf, BRD*). Das Prinzip beruht auf der Tatsache, dass Eiweiß und Kupferionen in alkalischer Lösung einen blauvioletten Komplex bilden, dessen Farbintensität der Eiweißkonzentration proportional ist und bei 546 nm gemessen wird (Variationskoeffizient $< 2 \%$).

2.4.3 Bestimmung des Plasmavolumens mit der ICG-Methode

Zur Bestimmung des Plasmavolumens (PV) verwendeten wir den Tracer Indocyaningrün (ICG) mit der Summenformel $C_{43} H_{47} N_2 NaO_6 S_2$ (Molekulargewicht 775 Dalton).

Die Strukturformel Anhydro-3,3,3,3'-Tetramethyl-1,1'-di-(4-Sulfobutyl)-4,5,4',5'-Dibenzoindotricarbocyanin-Hydroxyd-Natrium-Salz zeigt **Abb. 2.9**.

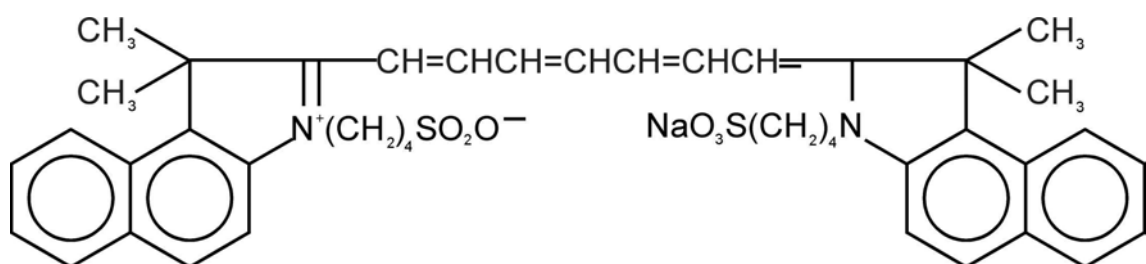


Abb. 2.9: Strukturformel von Indocyaningrün

Die Methode der PV-Messung mittels ICG im Vollblut wurde erstmals von Bradley und Barr beschrieben (Bradley u. Barr 1968) und an unserer Klinik entscheidend weiterentwickelt (Haller et al. 1992, Haller et al. 1993).

ICG bindet nach Bolusinjektion quantitativ und selektiv an Plasmaproteine, speziell an Albumin, und wird rasch über die Leber aus der Blutbahn eliminiert. Die Halbwertszeit von ICG liegt im menschlichen Plasma bei 3 Minuten. Eine komplette Durchmischung des Farbstoffs im Plasma kann erst nach 2 Minuten post injectionem erwartet werden.

Dosierung von Indocyaningrün

Der Farbstoff wird als Pulver in Durchstichflaschen in Portionen zu 25 oder 50 mg geliefert (*Beckton Dickinson Microbiology Systems, Cockesville, Maryland, USA; in Deutschland vertrieben durch: Päsel + Lorrei GmbH, Frankfurt/Main*). Er muss kurz vor Verwendung mit 10 bzw. 20 ml der beigefügten Verdünnungslösung aufgelöst werden, sodass eine Stammlösung von 2,5 mg/ml entsteht.

Es wurde eine Dosierung von 0,25 mg ICG pro kg Körpergewicht verwendet. Bei einem angenommenen PV von 50 ml pro kg Körpergewicht beträgt die theoretische initiale Konzentration im Plasma 5 µg/ml ($250 \text{ µg/kg} : 50 \text{ ml/kg} = 5 \text{ µg/ml}$). Diese initiale Konzentration fällt entsprechend der Halbwertszeit nach 2 Minuten auf 2,5 µg/ml ab und liegt dann im günstigen Messbereich des verwendeten Photometers.

Photometrische Bestimmung der ICG-Konzentration und Messaufbau

Die Konzentration des ICG wurde nach Durchmischung im Organismus photometrisch bestimmt. Bei der sogenannten Vollblutmethode wurde die Farbstoffkonzentration nicht im isolierten Plasma, sondern im nativen Vollblut gemessen. Eine arterielle Kanüle ist Grundvoraussetzung für die Anwendung der Vollblutmethode. Über die Kanüle wurde Blut aus einer peripheren Arterie mittels einer Pumpe in eine 50 ml-Spritze abgesaugt. Dabei durchströmte das Blut eine der Spritze vorgeschaltete Küvette, in der die ICG-Konzentration photometrisch bestimmt wurde. Nach jeder Messung wurde das Vollblut durch Umkehrung der Pumprichtung wieder in das Blutgefäßsystem des Patienten zurückgegeben. Herr H. Brechtelsbauer (*Physiologisches Institut, Ludwig-Maximilians-Universität, München*) entwickelte speziell zur Bestimmung der ICG-Konzentration im Vollblut eine Durchflussküvette und ein Densitometer. Die Durchflussküvette besteht aus Plexiglas und ist gassterilisierbar. Ihre Schichtdicke beträgt aufgrund der starken

Lichtabsorption von Vollblut nur 0,6 mm. Das Densitometer bestimmte die Konzentration von ICG im Vollblut photometrisch. Die Vollblutmethode (Messung im Vollblut) hat gegenüber der Plasmamethode (Messung im Plasma) den Vorteil, dass kein Blut von Hand entnommen, zentrifugiert und der Farbstoff im Plasma gemessen werden muss. Der Patient verliert bei der Vollblutmethode kein Blut, da es nach der Messung zurückgegeben wird. **Abb. 2.10** zeigt ein typisches Spektrogramm von ICG.

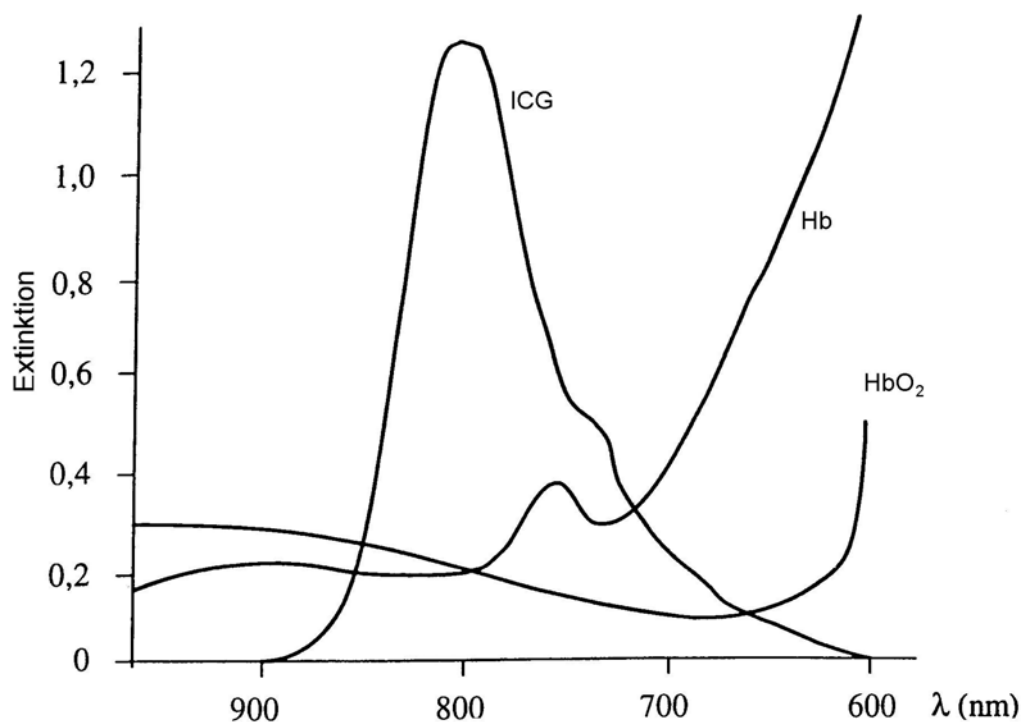


Abb. 2.10: Spektrogramm von Indocyaningrün und Hämoglobin; Wellenlänge [λ], Indocyaningrün [ICG], ungesättigtes Hämoglobin [Hb] und mit Sauerstoff gesättigtes Hämoglobin [HbO₂]

Der Farbstoff hat, wenn er an Proteine gebunden ist, ein Absorptionsmaximum bei 800 nm. Bei 900 nm ist keine Extinktion des Farbstoffs nachweisbar. Das verwendete Densitometer besitzt zwei Leuchtdioden (LED), welche Lichtwellen mit 800 bzw. 900 nm abwechselnd mit einer bestimmten Frequenz aussenden. Es muss im arteriellen Blut gemessen werden, da die variable Sauerstoffsättigung des Hämoglobins im venösen Blut auf die 900 nm-LED des Photometers als Störfaktor Einfluss nehmen könnte. Dies wäre bei der 800 nm-LED nicht zu befürchten, denn diese misst am isobestischen Punkt des Hämoglobins, an dem die Schwankung der Sauerstoffsättigung keinen Einfluss hat (siehe **Abb. 2.10**).

Das auftreffende Licht wird von dem in der Küvette enthaltenen Medium, also hier Vollblut, teilweise absorbiert. Dabei ist die Absorption entweder „unspezifischer“ Natur und durch die Trübung des Vollblutes verursacht oder sie ist „spezifisch“ und wird durch ICG verursacht. Das Licht, das durch die 800 nm- LED emittiert wird, wird sowohl durch spezifische (ICG), als auch durch unspezifische Absorption (Vollblut) verändert. Bei 900 nm erfolgt die Absorption nur durch unspezifische Trübung. Die Differenz der Absorptionen bei 800 und 900 nm ist ein Maß für die spezifische ICG-Absorption und hiermit für die ICG-Konzentration. Voraussetzung ist, dass vor der ICG-Messung ein elektronischer Nullabgleich mit „Nullblut“ (Blut ohne Farbstoff) erfolgt. Im Densitometer wird das von den Leuchtdioden emittierte Licht nach Durchgang durch die Küvette von einem Phototransistor registriert, nachfolgend elektronisch verarbeitet und als Messsignal in Millivolt (mV) produziert. Im Bereich zwischen 0 und ca. 800 mV stellt das Gerät eine exakte lineare Beziehung zwischen ICG-Konzentration im Vollblut und elektrischer Spannung her. In höheren Konzentrationsbereichen ist diese Linearität nicht mehr gewährleistet, sodass dann eine erneute Messung mit weniger ICG zu erfolgen hat. Wenn die ersten Messpunkte außerhalb des linearen Bereiches liegen, z.B. bei einem besonders kleinen PV des Patienten, kann entweder eine erneute Messung mit einer geringeren Menge an ICG oder auch eine Extrapolation anhand von späteren Messzeitpunkten durchgeführt werden.

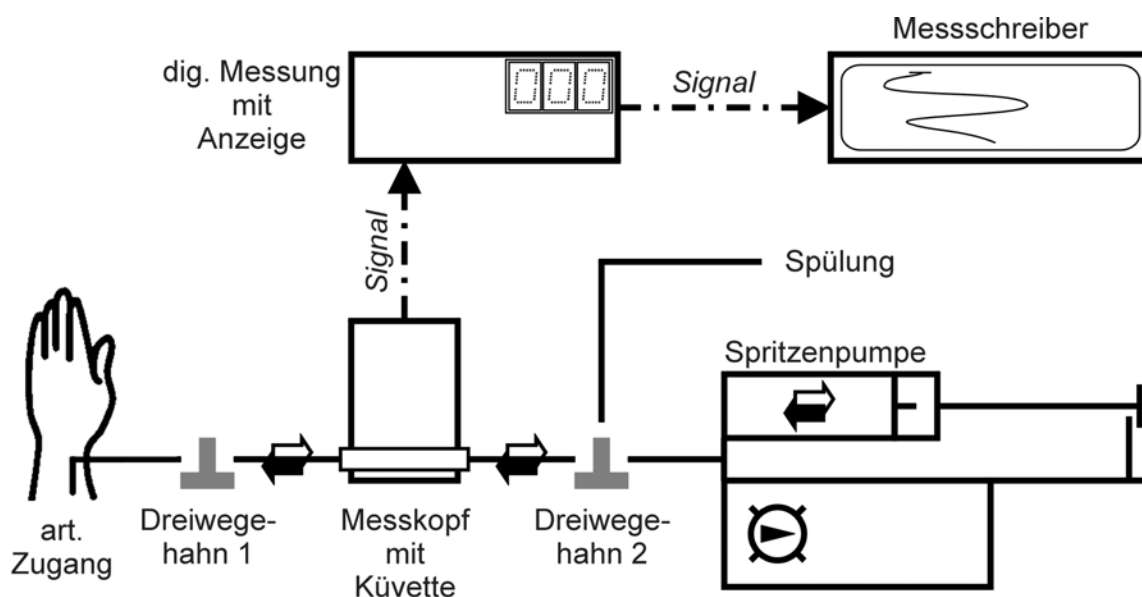


Abb. 2.11: Schematischer Aufbau der Messeinheit zur ICG-Messung

Abb. 2.11 stellt unseren Messaufbau in Form einer Skizze dar. Der Messkopf des Densitometers und damit auch die Durchflussküvette müssen möglichst nahe am Patienten bzw. der Arterie liegen. Der Abstand der Küvette zur Arterie betrug bei unserem Messaufbau etwa 10 cm. Größere Abstände verursachen schwer kalkulierbare zeitliche Versetzungen zwischen gemessener und tatsächlicher im Blutkreislauf bzw. arteriellen Blut vorhandener ICG-Konzentrationen. Diesen Fehler einer zeitlichen Verzögerung kann man mit einer entsprechend hohen Absaugrate des Vollblutes klein halten. Eine kontinuierliche Absaugung über 3 Minuten von 25 ml pro Minute hat sich bewährt. Über ein Kabel und einen Sechs-Pol-Stecker ist der Messkopf des Densitometers mit einem Verstärker verbunden. Dieser liefert eine Digitalzahl in mV als Messsignal. Über einen weiteren Ausgang wurde ein Schreiber angeschlossen, der eine Empfindlichkeit von 500 mV Gesamtbreite besitzt. Durch den Schreiber war eine Registrierung der Spannung über die Zeit möglich.

Die hohe Durchflussrate des Blutes durch die Küvette gewährleistete ein arterieller Katheter der Größe 18 G. Er wurde nach der Seldinger-Technik in eine Radial- bzw. Brachialarterie eingebracht und über einen 3-Wegehahn (1), der zur Entnahme und Rückführung des Eichblutes (siehe unten) diente, mit der Durchflussküvette verbunden (**Abb. 2.11**). Die Küvette wurde in den Messkopf eingelegt und fixiert. Über einen zweiten 3-Wegehahn (2) konnte das System mit isotoner Kochsalzlösung aus einer 500 ml Infusionsflasche gespült werden. Um eine Koagulation im System zu verhindern, wurden in die Spüllösung 2500 Einheiten Heparin eingebracht. Die Motorpumpe arbeitete mit zwei 50 ml-Einmal-Perfusorspritzen und verfügte über Vor- und Rücklauf. Somit konnte bei einer Absauggeschwindigkeit von 25 ml pro Minute mehr als 4 Minuten lang ununterbrochen abgesaugt werden. Zwischen den Registrierungen wurde der Absaugvorgang gestoppt und das entnommene Blut mittels Pumpe zurückgegeben. Zu Beginn der Messung war das System mit der oben genannten Spüllösung gefüllt und luftblasenfrei.

Eichung und Messung

Eine Eichung ist für die Vollblutmethode unabdingbar, da schon beim Verdünnungsansatz des Farbstoffs Ungenauigkeiten entstehen können. Dazu wurden bekannte Mengen

des Farbstoffs aus dem gleichen Farbstoffansatz, aus dem später die injizierte Menge für die eigentliche PV-Messung geschöpft wird, in bekannte Volumina des Patientenblutes eingebracht. Diese somit bekannten Konzentrationen wurden vom Schreiber als Ausschläge in Millimeter angezeigt. Wir verwendeten eine Zweipunkteichung, wobei wir 5 bzw. 10 μl der Farbstofflösung, aus der auch das Injektat entnommen wurde, mittels einer Hamilton- Mikroliter- Injektionsspritze in jeweils 10 ml des nativen heparinisierten Patientenblutes einsetzten, was einer Konzentration von 1,25 bzw. 2,5 μg pro ml entsprach. Diese zwei Punkte wurden in ein Koordinatensystem mit der ICG- Konzentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$) auf der x-Achse und der Schreiberauslenkung (mm) auf der y-Achse (siehe **Abb. 2.12**) eingetragen. Durch die zwei Punkte wurde eine Eichgerade gelegt. Bei den späteren Registrierungen entstehende Schreiberauslenkungen in mm konnten dann eindeutig den entsprechenden ICG-Konzentrationen zugeordnet werden. Ein neuer Verdünnungsansatz musste in jedem Fall mit einer eigenen Eichung verbunden sein. Da in vivo permanent mit geringen Schwankungen des Großgefäßhämatokrits zu rechnen ist, lagen Eichung und Injektion bzw. PV-Bestimmung zeitlich möglichst dicht beieinander.

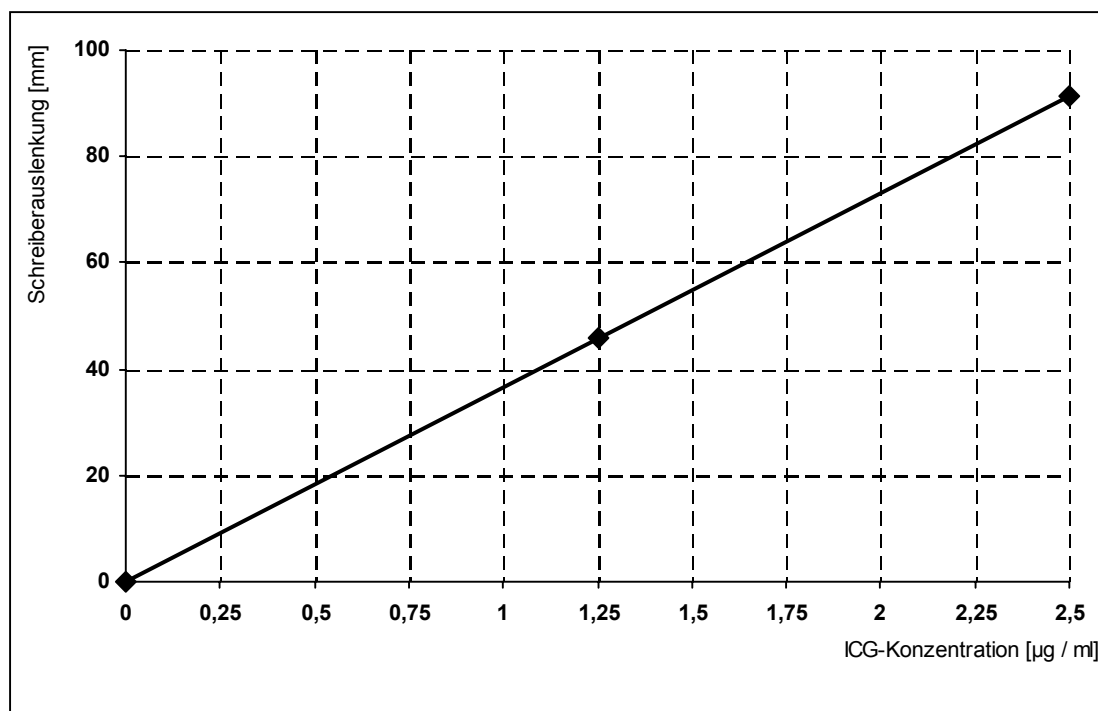


Abb. 2.12: Eichgerade einer Patientin

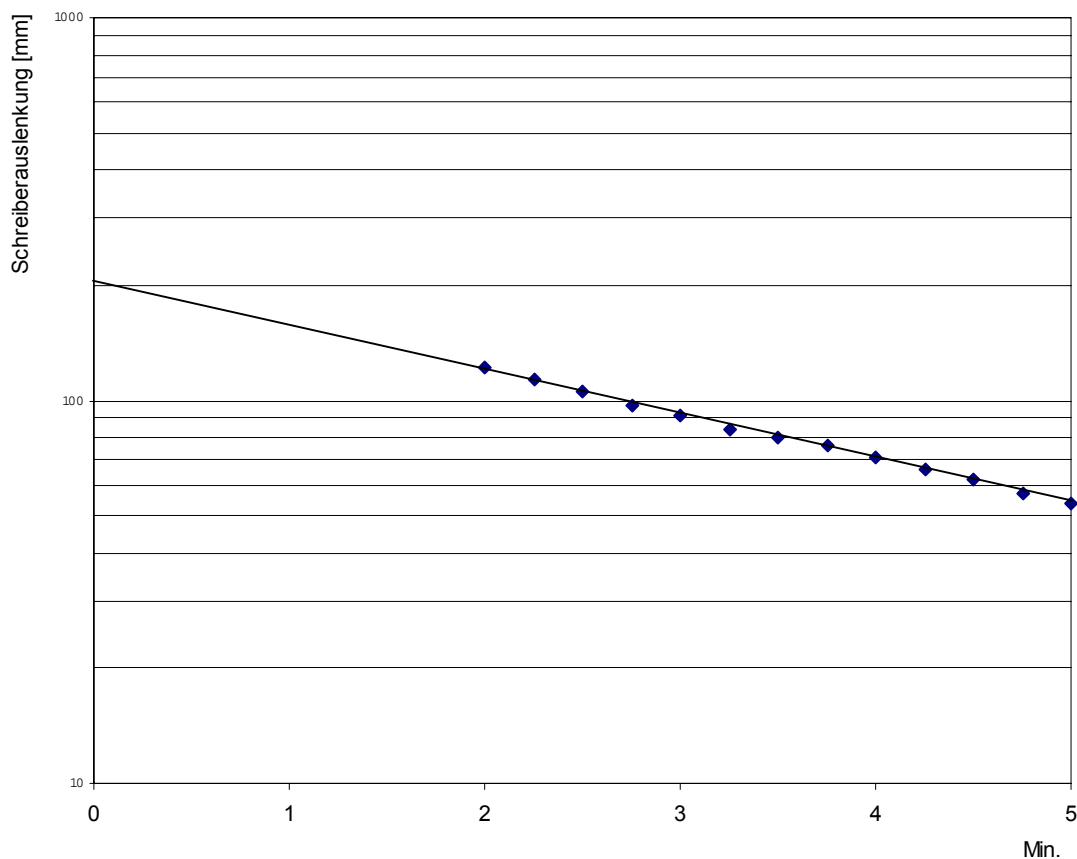


Abb. 2.13: Messwerte einer Patientin

Über den in **Abb. 2.11** aufgezeichneten 3-Wegehahn (1) wurde nun das jeweilige Eichblut unter Zuhilfenahme der Pumpe über die Küvette am Messkopf vorbei geführt. Nach Abschluss der Eichung wurde erneut ungefärbtes Patientenblut abgesaugt und registriert, um, falls erforderlich, den Schreiber erneut auf Null abzugleichen. Nun wurde dem Patienten eine bekannte Farbstoffmenge über einen zentralvenösen Katheter im Bolus innerhalb von 10 bis 15 Sekunden injiziert. Die Extinktion wurde im Blut exakt zur 2. bis 5. Minute nach Ende der Injektion des Farbstoffs abgelesen und registriert. Unmittelbar vor Injektion des Farbstoffs wurde eine Blutprobe von ca. 4 ml zur Bestimmung des Hämatokrits und der Proteinkonzentration in eine heparinisierte Spritze abgezogen. Der Hämatokrit wurde im Labor mittels einer Dreifachmessung (*HK Zentrifuge, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, BRD*) bestimmt und mit einer Schublehre abgelesen. Es wurde nicht für trapped plasma korrigiert. Die Proteinkonzentration wurde mit Hilfe der Biuret-Methode ermittelt.

Berechnung des Plasmavolumens (PV)

Aus den Schreiberauslenkungen bei 1,25 bzw 2,5 µg Farbstoff pro Milliliter ergab sich eine Eichgerade mit der Funktion $y = a \times x + b$ (siehe **Abb. 2.12**). Nun wurden in einem zweiten Koordinatensystem die Auslenkungen des Schreibers gegen die Zeitpunkte nach Injektion aufgetragen, was auf halblogarithmischem Papier eine Gerade ergab (siehe **Abb. 2.13**). Der Schnittpunkt dieser Geraden mit dem Zeitpunkt 0 Minuten ergab einen theoretischen Ausschlag in Millimetern. Setzte man diesen Wert nun in die oben beschriebene Funktion der Eichgeraden, erhielt man die theoretische Konzentration von ICG im Vollblut zum Zeitpunkt 0. Das Blutvolumen (BV_{ICG}) errechnete sich daraus entsprechend:

$$BV_{ICG} = \text{injizierte Menge (} M_{ICG} \text{)} / \text{initiale Konzentration (} C_0 \text{; bei } t = 0 \text{)}$$

Die injizierte Menge errechnete sich aus der Gewichts Differenz zwischen der mit ICG gefüllten und der leeren Spritze nach der Injektion.

Als Beispiel:

Bei einer Eichung mit 1,25 bzw. 2,5 µg ICG pro ml Patientenblut ergaben sich die folgenden Schreiberauslenkungen gegenüber der Basislinie:

Tabelle 2.6

ICG [µg/ml]	Auslenkung [mm]
1,25	44,9
2,5	91,4

Tabelle 2.6: Schreiberauslenkungen bei definierten ICG-Mengen

Abb. 2.12 zeigt die sich daraus ergebende Eichkurve. Sie hatte die Funktion:

$$y = 36,6 x - 0,083$$

Dabei war das Bestimmtheitsmaß:

$$r^2 = 1$$

Zwei bis fünf Minuten nach der Injektion wurden folgende Schreiberauslenkungen registriert:

Tabelle 2.7

Zeit [min]	Auslenkung [mm]		Zeit [min]	Auslenkung [mm]
2	121,7		3,75	75,9
2,25	114,0		4	71,1
2,5	105,8		4,25	66,3
2,75	97,0		4,5	62,1
3	90,8		4,75	57
3,25	84,3		5	54,1
3,5	80			

Tabelle 2.7: Schreiberauslenkungen zu definierten Zeitpunkten

Abb. 2.13 zeigt die Extrapolation der Messwerte gegen die Zeit. Hier wurde beschlossen, die Werte der 2. bis 5. Minute in die halblogarithmische Extrapolation einzubeziehen. Bei halblogarithmischer Auftragung ergab sich eine Gerade. Die Regressionsgleichung lautete:

$$y = 206 e^{-3,31x}$$

Dabei war das Bestimmtheitsmaß:

$$r^2 = 0,9986.$$

Für den Zeitpunkt der Injektion ($x = 0$) war der theoretische Ausschlag 206 mm. Setzt man diesen Wert in die oben beschriebene Funktion der Eichgerade, so ergibt sich:

$$y = 36,6x - 0,083$$

$$x = (206 - 0,083) / 36,6 = 5,587 \mu\text{g/ml}.$$

Dieser Wert spiegelt die theoretische Konzentration von ICG im Vollblut der untersuchten Patientin zum Zeitpunkt 0 (Injektion) wider. Das BV errechnet sich daraus bei einer angenommenen injizierten Menge von 9,415 ml und einer Konzentration von 2,5 mg/ml ICG entsprechend:

$$BV_{\text{ICG}} = \text{injizierte Menge (M}_{\text{ICG}}) / \text{initiale Konzentration (C}_0; \text{ bei } t = 0)$$

$$BV_{\text{ICG}} = 9,415 \text{ ml} \times 2500 \mu\text{g/ml} : 5,587 \mu\text{g/ml} = 4213 \text{ ml}.$$

Das nach obiger Formel bestimmte BV-ICG wird als „apparentes“ Blutvolumen bezeichnet, da es nur dann dem wahren BV des Patienten entsprechen würde, wenn der Hämatokrit überall in der Gefäßbahn gleich wäre. Der Hämatokrit in der Arterie bzw. in der Küvette des Densitometers, müsste dem "Ganzkörperhämatokrit" (Whole Body Hematocrit, WBH) entsprechen, was offenbar niemals der Fall ist.

Der Farbstoff ICG, der in Abhängigkeit von seiner Konzentration im Vollblut die spezifische Extinktion im Photometer liefert, verteilt sich nur im Plasma. Der Farbstoff „spart die Erythrozyten aus“. Es muss daher zur korrekten Bestimmung des PV zunächst die Konzentration im Vollblut mittels des aktuellen Hämatokrits auf eine theoretische ICG-Konzentration im Plasma umgerechnet werden. Diese läge vor, wenn durch die Küvette reines Plasma ohne Erythrozyten strömen würde. Die Konzentration von ICG in reinem Plasma (C_{Plasma}) wäre die Konzentration von ICG im Vollblut (C_{Vollblut}) geteilt durch $(1 - \text{Hct})$. Als Formel:

$$C_{\text{Plasma}} = C_{\text{Vollblut}} / (1 - \text{Hct})$$

Da die Konzentration von ICG im gesamten zirkulierenden Plasma gleich ist, ist die Co_{Plasma} nicht mehr „apparent“, sondern korrekt. Das korrekte PV ergibt sich nach dem Fick'schen Prinzip aus der injizierten ICG-Menge (Mi_{ICG}) geteilt durch die Plasmakonzentration:

$$PV = Mi_{ICG} / Co_{Plasma}$$

Rechenbeispiel:

Die Gesamtmenge ICG (Mi_{ICG}), die einer 60 kg schwere Patientin injiziert wird, errechnet sich bei 0,25 mg ICG pro kg Körpergewicht als:

$$60 \text{ kg} \times 0,25 \text{ mg/kg} = 15 \text{ mg} = 15000 \text{ } \mu\text{g}.$$

Bei einem Hct von 0,40 und einer Konzentration des ICG im Vollblut ($Co_{Vollblut}$) von 3 $\mu\text{g/ml}$ ergibt sich eine Plasmakonzentration (Co_{Plasma}) von:

$$Co_{Plasma} = 3 \text{ } \mu\text{g/ml} / (1 - 0,4) = 5 \text{ } \mu\text{g/ml}.$$

Nun erhält man für das Plasmavolumen:

$$15000 \text{ } \mu\text{g} / 5 \text{ } \mu\text{g/ml} = 3000 \text{ ml}$$

Pro kg Körpergewicht sind das:

$$3000 \text{ ml} / 60 \text{ kg} = 50 \text{ ml/kg}$$

2.4.4 Bestimmung von HES im Plasma und im Urin

Nach einer von Förster et al. (Förster et al. 1981) beschriebenen Messmethode erfolgte modifiziert die Bestimmung von HES im Serum und Urin. Dazu wurde 0,5 ml Plasma oder Urin in ein Zentrifugenröhrchen pipettiert, nach Zugabe von 0,25 ml 35 %iger Kaliumhydroxidlösung (*Merck, Darmstadt, BRD*) gemischt und, gegen Verdunstung geschlossen, für 45 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt. Durch dieses

Vorgehen wurden interferierende Substanzen wie Glucose und Proteine zerstört. Um das alkalistabile HES zu fällen, wurde nach Abkühlen 7,5 ml Ethanol (*Merck, Darmstadt, BRD*) zugegeben, gründlich vermischt und die Suspension für 12 Stunden in den Kühltank (4° Celsius) gestellt. Anschließend wurden die Proben zentrifugiert (3.500 Umdrehungen pro Minute, 0° Celsius für 60 Minuten) und der Überstand möglichst vollständig abgegossen. Den Rückstand lösten wir in 2,5 ml einer 2-molaren Salzsäure (*Merck, Darmstadt, BRD*) und stellten ihn anschließend zur vollständigen Hydrolyse gut verschlossen für 120 Minuten in ein siedendes Wasserbad. Nach Abkühlen wurde die Suspension in einen 10 ml-Messkolben (*Merck, Darmstadt, BRD*) überführt und quantitativ erst mit 2,5 ml einer 2-molaren Natriumhydroxidlösung (*Merck, Darmstadt, BRD*) und dann mit Wasser exakt bis zur 10 ml-Marke aufgefüllt. Mit einer HES-Standardlösung der Konzentration 1,2 g HES pro dl Wasser führten wir die oben beschriebene Prozedur gleichermaßen durch.

Zur photometrischen HES-Bestimmung im aliquoten Teil des Hydrolysates überführten wir 0,5 ml der hydrolysierten Probe oder der Standardlösung in jeweils eine Quarzküvette (Lichtweg 10 mm, *Hellma, BRD*) und gaben anschließend 2,0 ml Gluco-quant® Lösung (*Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrokinase; Boehringer, Mannheim, BRD*). Damit konnte die erste Extinktion (E1) bei 340 nm gemessen werden (*Spectrophotometer Cary 100 Bio, Varian, Melbourne, Australia*). Anschließend wurden 0,04 ml Gluco-quant® Lösung zugemischt, sodass nach weiteren 10 Minuten die zweite Extinktion (E2) bei ebenfalls 340 nm bestimmt werden konnte.

Nachdem die Extinktionsdifferenz ($\Delta E = E2 - E1$) direkt proportional der HES-Konzentration (cHES) ist, errechnet sich die cHES der Plasma- bzw. Urinprobe unter Verwendung der Standardkonzentration $c_{St} = 1,2 \text{ g/dl}$ wie folgt:

$$c_{HES} = c_{St} \times \Delta E \text{ Probe} / \Delta E \text{ Standard}$$

2.5 Mathematische Analysen und abgeleitete Größen

Alle gewonnenen Werte für PV und RCV wurden zu bekannten Sollwerten in Relation gesetzt:

Der PV-Sollwert nach Pearson lautet (Pearson et al. 1995):

$$\text{PV-Soll} = 1395 \text{ ml} \times \text{Körperoberfläche} [\text{m}^2]$$

Der RCV-Sollwert nach Haller lautet (Haller et al. 1997):

$$\text{RCV-Soll} = 848 \text{ ml} \times \text{Körperoberfläche} [\text{m}^2]$$

Dabei erfolgte die Berechnung der Körperoberfläche nach Gehan und George (Gehan und George 1970).

2.5.1 Allgemeine Berechnungen zu den Blutvolumina

1. Berechnung des Ganzkörperhämatokrits WBH:

Der Ganzkörper-Hämatokrit, der hier als whole-body-Hämatokrit (WBH) bezeichnet wird, ergibt sich aus den gemessenen Ergebnissen des PV und RCV zum jeweiligen Messzeitpunkt:

$$\text{WBH} = \text{RCV} / (\text{RCV} + \text{PV})$$

2. Berechnung von f-cell:

Der zum jeweiligen Messzeitpunkt gehörige f-cell-Wert ergibt sich aus:

$$\text{f-cell} = \text{WBH} / \text{Hct}$$

wobei der Hct dem Großgefäßhämatokrit (large-vessel-Hämatokrit) entspricht.

3. Berechnung des Blutentzugs während ANH:

Das Leergewicht der Beutel (40 g) und der CPDA1-Stabilisatorinhalt (70 g bzw. 70 ml) ergaben zusammen eine Summe von 110 g, die vom Vollgewicht der ANH-Beutel abgezogen werden musste. Das spezifische Gewicht des Blutes wurde mit 1,05 veranschlagt. Daraus ergab sich folgende Gleichung:

$$\text{Blutentzug} = (\text{ANH-Beutel-Vollgewicht} - 110 \text{ g}) / 1,05$$

4. Berechnung des Erythrozytenentzugs während ANH:

$$\text{Erythrozytenentzug} = (\text{ANH-Beutel-Vollgewicht} - 110 \text{ g}) / 1,05 \times \text{Beutel-Hct}$$

5. Berechnung des Plasmaentzugs während ANH:

$$\text{Plasmaentzug} = \text{Blutentzug} - \text{Erythrozytenentzug}$$

6. Berechnung des Volumeneffekts:

Nach der Gleichung:

$$\text{Volumeneffekt} = 1,00 + \{(\text{Blutentzug} - \text{Kolloidzufuhr} + \Delta \text{BV}) / \text{Kolloidzufuhr}\}$$

wobei ΔBV der gemessenen Änderung des Blutvolumens durch ANH entspricht.

7. Berechnung des chirurgischen Erythrozytenverlusts:

Dieser kalkulierte Erythrozytenverlust berechnete sich aus der Differenz vom Erythrozytenvolumen vor ANH (RCV-start) und dem postoperativen Erythrozytenvolumen (RCV-end) und wurde allein durch die chirurgische Blutung verursacht, da in jedem Fall eine vollständige Retransfusion des ANH-Blutes vor der postoperativen Messung erfolgte:

$$\text{Chirurgischer Erythrozytenverlust} = \text{RCV-start} - \text{RCV-end}$$

8. Berechnung des chirurgischen Blutverlusts:

Hierzu wurde der Mittelwert (Hct-m) der intraoperativ (ca. alle 30 min.) gemessenen Hct-Werte benötigt:

$$\text{Chirurgischer Blutverlust} = \text{Chirurgischer Erythrozytenverlust} / \text{Hct-m}$$

9. Berechnung des chirurgischen Plasmaverlusts:

$$\text{Chirurgischer Plasmaverlust} = \text{Chirurg. Blutverlust} - \text{Chirurg. Erythrozytenverlust}$$

2.5.2 Berechnungen zur ANH-Bilanz für Protein und HES

1. Berechnung der Menge an intravasalem Protein (IVP):

$$\text{IVP} = \text{PV} \times \text{Prot}$$

2. Berechnung des Proteinentzugs:

Dazu muss berücksichtigt werden, dass in jedem ANH-Beutel 70 ml CPDA1-Stabilisator enthalten sind:

$$\text{Proteinentzug} = (\text{ANH-Plasmaentzug} + 70 \text{ ml}) \times \text{Prot des Beutelplasmas}$$

3. Bilanz der intravasalen Proteinmenge (IVP):

Dabei musste zur Änderung der intravasalen Proteinmenge (ΔIVP) der Proteinentzug addiert und die Albuminzufuhr subtrahiert werden. ΔIVP wurde berechnet, indem man den vor ANH gemessenen IVP-Wert ($\text{IVP}_{\text{vor ANH}}$) von dem nach ANH gemessenen IVP-Wert ($\text{IVP}_{\text{nach ANH}}$) abzog ($\Delta \text{IVP} = \text{IVP}_{\text{nach ANH}} - \text{IVP}_{\text{vor ANH}}$):

$$\text{Bilanz für IVP} = \Delta \text{IVP} + \text{Proteinentzug} - \text{Albuminzufuhr}$$

4. Berechnung der intravasalen HES-Menge:

Die intravasale HES-Menge errechnete sich durch Multiplikation des Plasmavolumens (PV) mit der HES-Plasmakonzentration (cHES).

$$\text{Intravasale HES-Menge} = \text{PV} \times \text{cHES}$$

5. Bilanz der intravasalen Menge an HES:

Um die intravasale HES-Menge zu bilanzieren, musste von der nach ANH gemessenen intravasalen HES-Menge die HES-Zufuhr abgezogen werden.

$$\text{HES-Bilanz intravasal} = \text{intravasale HES-Menge}_{\text{nach ANH}} - \text{HES-Zufuhr}$$

2.5.3 Berechnungen zur Gesamtbilanz für Protein und HES

Die Gesamtbilanz umfasste sämtliche Messungen mit Beginn der präoperativen Doppelmessungen vor ANH und endete mit den postoperativen Doppelmessungen. Dabei wurden Berechnungen zu chirurgischen Blutverlusten und der Menge an intravasalem Protein wie in den Kapiteln 2.5.1 und 2.5.2 beschrieben durchgeführt.

1. Berechnung des chirurgischen Proteinverlusts:

a) Dabei wurde der chirurgische Plasmaverlust mit der mittleren intraoperativen Plasmaproteinkonzentration (Prot-m) multipliziert:

$$\text{Chirurgischer Proteinverlust} = \text{Chirurgischer Plasmaverlust} \times \text{Prot-m}$$

b) Die mittlere intraoperative Plasmaproteinkonzentration erhielten wir als Mittelwert aus den Bestimmungen der Proteinkonzentration nach ANH, der Proteinkonzentration vor Retransfusion sowie der postoperativ gemessenen Proteinkonzentration (Mittelwert der Doppelmessung Prot-4a und Prot-4b):

$$\text{Prot-m} = (\text{Prot}_{\text{nach ANH}} + \text{Prot}_{\text{vor Retransfusion}} + \text{Prot}_{\text{postop}}) / 3$$

c) Der chirurgische Plasmaverlust errechnete sich wie folgt:

$$\text{Chirurgischer Plasmaverlust} = \text{Chirurgischer Blutverlust} \times (1 - \text{Hct-m})$$

2. Gesamtbilanz der intravasalen Proteinmenge (IVP):

Dabei musste zur Änderung der intravasalen Proteinmenge (Δ IVP) der chirurgische Proteinverlust addiert und die Albuminzufuhr subtrahiert werden:

$$\text{Gesamtbilanz für IVP} = \Delta \text{ IVP} + \text{Chirurgischer Proteinverlust} - \text{Albuminzufuhr}$$

3. Gesamtbilanz der intravasalen Menge an HES:

Um eine Gesamtbilanz der intravasalen HES-Menge zu erhalten, musste man zur postoperativen intravasalen HES-Menge den chirurgischen HES-Verlust und die HES-Ausscheidung im Urin addieren und die Zufuhr an HES subtrahieren:

$$\text{HES-Gesamtbilanz} = \text{postoperative intravasale HES-Menge} + \text{chirurg. HES-Verlust} + \text{HES-Urinausscheidung} - \text{HES-Zufuhr}$$

Dabei errechnete sich der chirurgische HES-Verlust wie folgt:

$$\text{Chirurgischer HES-Verlust} = \text{Chirurgischer Plasmaverlust} \times \text{cHES-m}$$

Unter cHES-m versteht man den Mittelwert der Bestimmungen der HES-Konzentrationen nach ANH, vor Retransfusion und postoperativ, wobei es sich bei der letztgenannten postoperativen HES-Konzentration um den Mittelwert aus der postoperativen Doppelmessung (cHES-3a und cHES-3b) handelte:

$$\text{cHES-m} = (\text{cHES}_{\text{nach ANH}} + \text{cHES}_{\text{vor Retransfusion}} + \text{cHES}_{\text{postop}}) / 3$$

Die HES-Ausscheidung im Urin errechnete sich aus der HES-Konzentration im Urin multipliziert mit der ausgeschiedenen Urin-Menge folgendermaßen:

$$\text{Urinausscheidung an HES} = \text{cHES Urin} \times \text{ausgeschiedenem Urin}$$

2.5.4 Berechnungen zu Einsparungen an Erythrozyten durch die ANH

Mit Hilfe von gemessenen RCV-Werten lässt sich die theoretische Einsparung an Erythrozyten durch ANH berechnen. Von unserer Arbeitsgruppe wurden bereits in einer früheren Arbeit (Rehm et al. 2000¹) mittels zweier standardisierter Gleichungen die Abschätzung eines theoretischen postoperativen Hämatokrits und eines theoretischen mittleren intraoperativen Hämatokrits ohne Durchführung einer ANH ausführlich dargelegt. Über diese Gleichungen wird, wie im Folgenden dargestellt, eine Berechnung der Einsparung an Erythrozyten durch ANH möglich:

1. Berechnung des theoretischen postoperativen Hämatokrits (Hct-end_t) ohne durchgeführte ANH:

Dabei ist der chirurgische Blutverlust als Multiplikation des Blutvolumens vor Beginn der chirurgischen Blutung mit dem Verhältnis von Hct vor Blutungsbeginn zum theoretischen postoperativen Hämatokrit definiert (Gross 1983):

$$\text{Chirurgischer Blutverlust} = \text{BV-start} \times \log (\text{Hct-start} / \text{Hct-end}_t)$$

Hieraus lässt sich die Formel zur Berechnung des theoretischen postoperativen Hämatokrits (Hct-end_t) folgendermaßen ableiten:

$$\text{Hct-end}_t = \text{Hct-start} / e^{(\text{Chirurgischer Blutverlust} / \text{BV-start})}$$

2. Berechnung des theoretischen mittleren intraoperativen Hämatokrits (Hct-m_t) ohne durchgeführte ANH:

Der theoretische mittlere intraoperative Hämatokrit (Hct-m_t) lässt sich aus der Formel zur Berechnung des chirurgischen Blutverlustes nach Bourke und Smith bestimmen (Bourke und Smith 1974). In diese Gleichung werden die gemessenen Werte für Ausgangsblutvolumen (BV-start) und Hämatokrit (Hct-start) vor ANH und der oben berechnete Wert für Hct-end_t eingesetzt.

$$\text{Chirurgischer Blutverlust} = \text{BV-start} \times (\text{Hct-start} - \text{Hct-end}_t) / \text{Hct-m}_t$$

Daraus ergab sich die Gleichung für den theoretischen mittleren intraoperativen Hämatokrit wie folgt:

$$\text{Hct-m}_t = \text{BV-start} / \text{chirurgischer Blutverlust} \times (\text{Hct-start} - \text{Hct-end}_t)$$

3. Berechnung der Einsparung an Erythrozyten:

Der theoretische Erythrozytenverlust ohne durchgeführte ANH (Erythrozytenverlust_t) errechnete sich durch die Multiplikation des chirurgischen Blutverlusts mit dem theoretischen mittleren intraoperativen Hämatokrit wie folgt:

$$\text{Erythrozytenverlust}_t = \text{Chirurgischer Blutverlust} \times \text{Hct-m}_t$$

Hieraus ergab sich die Gleichung für die Einsparung an Erythrozyten:

$$\text{Einsparung an Erythrozyten} = \text{gemessener Erythrozytenverlust} - \text{Erythrozytenverlust}_t$$

2.5.5 Statistische Mittel

Alle gemessenen Daten waren normalverteilt (Testung mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests), worauf sie als Mittelwerte mit Standardabweichungen dargestellt wurden. Zur statistischen Auswertung wurde, wo jeweils anwendbar (z.B. Volumina von entzogenem Blut und Kolloidinfusion während ANH, geschätzte und kalkulierte Blutverluste), der Student-t-Test herangezogen. Für Inner- und Intergruppenvergleiche führten wir eine Two-way Varianzanalyse für wiederholte Messungen durch. Post hoc Tests wurden nach der Student-Newman-Keuls Methode für multiple Vergleiche angewendet. Ein p-Wert von < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

3 ERGEBNISTEIL

Wie bereits im vorausgehenden Kapitel dargestellt, wurde der gesamte Untersuchungsablauf in vier grundlegende Messzeitpunkte aufgeteilt (siehe auch **Tabelle 2.3**):

1. Vor akuter normovolämer Hämodilution
2. Nach akuter normovolämer Hämodilution
3. Vor Retransfusion
4. Nach Operationsende

Die statistische Auswertung ergab, dass alle gemessenen Werte normalverteilt waren. Daher sind in allen Tabellen und Abbildungen des Ergebnisteils die Messergebnisse als Mittelwerte \pm Standardabweichungen dargestellt.

Die anthropometrischen Daten der Patientinnen wurden bereits ausführlich im Kapitel **2.1.2** dargestellt (siehe dazu **Tabelle 2.1**). In **Tabelle 3.1.1** sind sie nochmals kurz auf die jeweilige Kolloidgruppe bezogen zusammengefasst. Zwischen beiden Gruppen befand sich bezüglich der anthropometrischen Daten und der Operationsdauer kein signifikanter Unterschied.

Tabelle 3.1.1

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 10)
Alter [a]	46 \pm 8	39 \pm 8
Größe [cm]	165 \pm 3	166 \pm 7
Gewicht [kg]	72 \pm 17	62 \pm 13
BSA [m ²]	1,82 \pm 0,21	1,70 \pm 0,18
Operationsdauer [h]	4,5 \pm 0,7	4,5 \pm 0,8

Tabelle 3.1.1: Anthropometrische Daten und Operationsdauer: Alter [a], Größe [cm], Gewicht [kg], BSA = Körperoberfläche [m²], Operationsdauer [h]

Die Messungen erfolgten in Narkose unter stabilen Bedingungen.

In **Tabelle 3.1.2** sind die gemessenen hämodynamischen Parameter (zentralvenöser Druck, arterieller Mitteldruck und die Herzfrequenz) beider Patientinnenkollektive von Beginn bis Ende des Untersuchungsablaufes dargestellt.

Tabelle 3.1.2

	HA-Gruppe	HES-Gruppe	HA-Gruppe	HES-Gruppe	HA-Gruppe	HES-Gruppe
Messzeitpunkte	ZVD [mmHg]	ZVD [mmHg]	MAP [mmHg]	MAP [mmHg]	HF [min ⁻¹]	HF [min ⁻¹]
vor ANH	4 ± 5	6 ± 3	68 ± 8	71 ± 10	73 ± 15	65 ± 7
nach ANH	11 ± 10	7 ± 3	73 ± 19	73 ± 7	79 ± 9	67 ± 6
vor Retransfusion	15 ± 8	11 ± 7	65 ± 6	65 ± 7	84 ± 15	75 ± 10
postoperativ	14 ± 10	17 ± 6	83 ± 17	74 ± 13	80 ± 13	71 ± 23

Tabelle 3.1.2: Hämodynamische Parameter; ZVD = zentralvenöser Druck; MAP = arterieller Mitteldruck; HF = Herzfrequenz

Wie aus der Tabelle ersichtlich, nahm der zentralvenöse Druck in beiden Gruppen um etwa 10 mmHg zu.

3.1 Vor akuter normovolämer Hämodilution (ANH)

3.1.1 Blutvolumen-Status vor ANH

Die **Tabelle 3.1.3a** stellt die präoperativ vor ANH gemessenen Plasma-, Erythrozyten- und Blutvolumina für die HA-Gruppe, **Tabelle 3.1.3b** für die HES-Gruppe dar. Dabei handelt es sich bei PV-1 um den Mittelwert der Doppelmessung (PV-1a und PV-1b). Gleiches gilt für den in Spalte 5 der **Tabellen 3.1.3a** und **3.1.3b** dargestellten Hämatokrit (Hct-1) zum Zeitpunkt vor ANH: Auch hier sind die Mittelwerte der Hct-Doppelmessung aufgeführt. Weiterhin ist in den Tabellen der errechnete Ganzkörperhämatokrit (WBH) und der daraus ableitbare f-cell-Wert aller Patientinnen angegeben. Diese Werte sind mit dem PV-1a, also dem ersten Wert der Doppelmessung berechnet worden, da eben zu diesem Zeitpunkt auch das RCV gemessen wurde.

Tabelle 3.1.3a: HA-Gruppe

Patientin Nr.	PV-1 [ml]	RCV-1 [ml]	BV-1 [ml]	Hct-1 [Vol. %]	WBH-1a [Vol. %]	f-cell-1a
3	2648	1400	4048	38,11	34,31	0,893
4	2788	1258	4046	36,64	30,92	0,858
5	2583	1254	3837	36,11	33,03	0,935
6	3352	1421	4773	36,72	29,60	0,791
7	4093	1583	5676	32,90	27,38	0,816
10	3221	1490	4711	38,66	31,07	0,815
14	2851	1281	4132	35,21	30,73	0,822
15	3024	1368	4392	36,94	31,84	0,862
16	3542	1247	4790	31,12	26,18	0,854
18	2568	1152	3720	40,07	30,16	0,762
MW	3067	1345	4412	36,25	30,52	0,847
SD	491	131	588	2,65	2,42	0,051
Min.	2568	1152	3720	31,12	26,18	0,762
Max.	4093	1583	5676	40,07	34,31	0,935

Tabelle 3.1.3b: HES-Gruppe

Patientin Nr.	PV-1 [ml]	RCV-1 [ml]	BV-1 [ml]	Hct-1 [Vol. %]	WBH-1a [Vol. %]	f-cell-1a
1	2621	1001	3622	31,82	27,43	0,862
2	2621	1414	4035	37,97	35,24	0,916
8	2880	1425	4305	35,22	33,22	0,948
9	2654	1109	3763	34,63	28,55	0,853
11	3465	995	4460	28,25	22,60	0,815
12	2546	1076	3622	38,27	29,46	0,770
13	3533	1227	4760	30,83	25,15	0,821
17	3376	1491	4867	34,94	30,05	0,878
19	2513	1187	3700	36,14	33,17	0,889
20	2516	1280	3796	40,46	34,43	0,860
MW	2872	1221	4093	34,85	29,93	0,861
SD	419	179	474	3,71	4,15	0,051
Min.	2513	995	3622	28,25	22,60	0,770
Max.	3533	1491	4867	40,46	35,24	0,948

Tabelle 3.1.3a (HA-Gruppe) und **Tabelle 3.1.3b** (HES-Gruppe): Blutvolumen-Status vor ANH; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum; PV = Plasmavolumen; RCV = Erythrozytenvolumen; BV = Blutvolumen; Hct = Hämatokrit; WBH = Ganzkörperhämatokrit (whole body hematocrit); f-cell-1 = ermittelt aus simultaner Messung von PV-1, RCV-1 und Hct-1

Tabelle 3.1.4a und **3.1.4b** zeigen für die HA-Gruppe und die HES-Gruppe das vor ANH gemessene PV, RCV und BV bezogen auf Körpergewicht [ml/kg] und auf die Körperoberfläche [ml/m²]. Die Berechnung der Körperoberfläche erfolgte dabei nach einer Formel von Gehan und George (Gehan und George 1970).

Des Weiteren sind in **Tabelle 3.1.4a** und **3.1.4b** die Ergebnisse mit den Sollwerten nach Pearson für PV (Pearson et al. 1995) und nach Haller für RCV (Haller et al. 1997) in Relation gesetzt.

Tabelle 3.1.4a: HA-Gruppe

Einheit	PV-1	RCV-1	BV-1
[ml/kg]	43,50 ± 7,95 (34,76 – 63,26)	19,13 ± 2,60 (13,89 – 22,27)	62,63 ± 9,98 (49,79 – 85,53)
[ml/m ²]	1682 ± 213 (1483 – 2197)	739 ± 44 (685 – 804)	2421 ± 230 (2200 – 2971)
Soll%	120,6 ± 15,2 (106,3 – 157,5)	87,2 ± 5,1 (80,8 – 94,8)	108 ± 10 (98 – 132)

Tabelle 3.1.4b: HES-Gruppe

Einheit	PV-1	RCV-1	BV-1
[ml/kg]	47,17 ± 8,73 (32,36 – 60,78)	19,83 ± 2,45 (16,01 – 24,62)	67,00 ± 9,67 (48,37 – 78,24)
[ml/m ²]	1698 ± 248 (1399 – 2163)	717 ± 60 (621 – 814)	2415 ± 231 (2115 – 2784)
Soll%	121,7 ± 15,2 (100,3 – 155,1)	84,5 ± 7,1 (73,3 – 96,0)	108 ± 10 (94 – 124)

Tabelle 3.1.4a (HA-Gruppe) und **Tabelle 3.1.4b** (HES-Gruppe): Mittelwerte ± Standardabweichungen, Streubreiten in Klammern von PV-1, RCV-1 und BV-1 in der HA-Gruppe und in der HES-Gruppe bezogen auf das Körpergewicht [ml/kg] und auf die Körperoberfläche [ml/m²], sowie als % vom Sollwert nach Pearson bzw. Haller

Das BV vor ANH betrug in Absolutzahlen im Mittel 4412 ± 588 ml in der HA-Gruppe und 4093 ± 474 ml in der HES-Gruppe. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant. Das PV betrug im Mittel in der HA-Gruppe 3067 ± 491 ml, in der HES-

Gruppe hingegen 2872 ± 419 ml, was ebenfalls statistisch nicht signifikant verschieden war. Das RCV lag in der HA-Gruppe bei 1345 ± 131 ml, in der HES-Gruppe bei 1221 ± 179 ml. Auch diese Werte unterschieden sich nur unerheblich.

Auch bezogen auf Körpergewicht und Körperoberfläche fanden sich im Ausgangs-BV, -PV und -RCV keine signifikanten Unterschiede im Vergleich beider Gruppen. Aus der Darstellung der Sollwerte (siehe **Tabellen 3.1.4a** und **3.1.4b**) geht eindeutig hervor, dass in beiden Gruppen ein Defizit an RCV von rund 15 % vorlag. Das PV hingegen lag in beiden Gruppen um ca. 20 % über dem Sollwert, wodurch ein hochnormales BV sowohl in der HA-Gruppe als auch in der HES-Gruppe resultiert. Dieser Ausgangszustand soll in der Diskussion noch detailliert erläutert werden.

Der gemessenen mittlere Hct-1 betrug in der HA-Gruppe $36,25 \pm 2,65$ Vol.%, in der HES-Gruppe $34,85 \pm 3,71$ Vol.% (siehe **Tabelle 3.1.3a** und **3.1.3b**). Der Ganzkörperhämatokrit (WBH-1; Berechnung siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 1) lag in beiden Gruppen rund 5 Vol.% unter dem large-vessel-Hämatokrit (Hct-1). Daraus errechnet sich (siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 2) ein mittleres f-cell-1 von 0,847 in der HA-Gruppe und 0,861 in der HES-Gruppe. Die Ergebnisse sind ebenfalls für alle Patientinnen in **Tabelle 3.1.3a** und **3.1.3b** dargestellt.

3.1.2 Protein-Status vor ANH

Im Rahmen der Doppelmessungen vor ANH wurde auch die Proteinkonzentration im Plasma zweimalig und zwar parallel zu den Messungen PV-1a und PV-1b bestimmt. Als Prot-1 wurde der daraus errechnete Durchschnittswert bezeichnet und belief sich auf $60,7 \pm 3,6$ g/l in der HA-Gruppe und $63,1 \pm 4,3$ g/l in der HES-Gruppe. Mittels der Kenntnis des Plasmavolumens ließ sich die Menge an intravasalem Protein (IVP-1) bestimmen (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.2** Formel Nr. 1), welche 186 ± 32 g entsprechend $102,1 \pm 14,4$ g/m² bezogen auf die Körperoberfläche in der HA-Gruppe, und 181 ± 30 g beziehungsweise $107,2 \pm 17,0$ g/m² in der HES-Gruppe betrug.

Die entsprechenden Ausgangswerte sind in **Tabelle 3.1.5** dargestellt.

Tabelle 3.1.5

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 10)
Prot-1 [g/l]	60,7 ± 3,6 (54,7 – 66,9)	63,1 ± 4,3 (58,4 – 71,4)
IVP-1 [g]	186 ± 32 (141 - 258)	181 ± 30 (147 - 241)
IVP-1 [g/m ²]	102,1 ± 14,4 (81,1 – 134,9)	107,2 ± 17,0 (85,9 – 131,6)

Tabelle 3.1.5: Prot-1 = Proteinkonzentration im Plasma vor ANH; IVP-1 = Menge an intravasalem Protein

Hauptbefunde bei Ausgangssituation:

1. Das mittlere PV-1 lag in beiden Gruppen rund 300 ml/m² deutlich über dem PV-Normwert nach Pearson et al. (1395 ml/m²).
2. Dabei lag das mittlere RCV-1 in beiden Gruppen jedoch um etwas mehr als 100 ml/m² unter dem RCV-Normwert nach Haller et al. (848 ml/m²).
3. Daraus resultiert in beiden Gruppen ein hoch-normales mittleres BV-1 (rund 200 ml/m² über dem Sollwert von 2243 ml/m²).
4. Der mittlere Hct-1 lag mit rund 35 Vol.% in beiden Gruppen signifikant (rund 5 Vol.%) über dem berechneten Ganzkörperhämatokrit (WBH-1).
5. Daraus ergab sich ein mittlerer f-cell-1-Wert von rund 0,85 in beiden Gruppen.
6. Beide Patientengruppen wiesen vor ANH normal hohe Proteinmengen und entsprechend auch normal hohe Gesamtmengen an intravasalem Eiweiß auf.

3.2 Nach akuter normovolämer Hämodilution (ANH)

3.2.1 Blutentzug und Volumenrückgabe

In **Tabelle 3.2.1** sind die durch ANH entzogenen Volumina und die Volumenrückgabe des entsprechenden Kolloids in Absolutwerten sowie in Relation zur Körperoberfläche für die HA-Gruppe und die HES-Gruppe dargestellt. Bei den Werten handelt es sich um Mittelwerte ± Standardabweichung und deren Streubreiten in Klammern.

Der mittlere Blutentzug in der HA-Gruppe war mit 1576 ± 227 ml rund 300 ml höher als in der HES Gruppe (1269 ± 217 ml). Der etwas höhere Blutentzug in der HA-Gruppe lässt sich unter anderem mit der höheren Körperoberfläche ($1,82 \pm 0,21$ m² gegenüber $1,70 \pm 0,18$ m² in der HES-Gruppe) und dementsprechend höherem Ausgangsblutvolumen dieses Kollektivs begründen. Somit wurden in der HA-Gruppe auch rund 200 ml mehr Plasma und rund 120 ml mehr Erythrozyten entzogen.

Der mittlere Plasmaproteinenzug lag bei $64,2 \pm 11,4$ g in der HA-Gruppe versus $46,7 \pm 8,0$ g in der HES-Gruppe (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.2** Formel Nr. 2). In beiden Gruppen wurden rund 16 % mehr an Kolloid infundiert, als Vollblut entnommen worden war. In Millilitern entspricht dies einem zusätzlichen Volumen von 255 ± 77 ml Kolloid in der HA-Gruppe bzw. 200 ± 71 ml in der HES-Gruppe. Diese 16 %ige Mehrzufuhr an Kolloid war in der Versuchsanordnung angestrebt und somit exakt erreicht worden.

Tabelle 3.2.1

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 10)
Blutentzug [ml]	1576 ± 227 (1205 - 1857)	1269 ± 217 (869 – 1550)
Plasmaentzug [ml]	1050 ± 173 (787 - 1252)	863 ± 158 (565 – 1042)
Erythrozytenentzug [ml]	526 ± 64 (419 - 605)	405 ± 76 (305 – 515)
Plasmaproteinenzug [g]	$64,2 \pm 11,4$ (44,8 – 82,0)	$46,7 \pm 8,0$ (31,0 – 57,7)
Volumenrückgabe [ml]	ALBUMIN 1831 ± 271 (1500 - 2200)	HES 1469 ± 246 (1000 - 1800)
Volumenrückgabe im Verhältnis zum Blutentzug [%]	$116,2 \pm 4,7$	$116,0 \pm 5,2$

Tabelle 3.2.1: Durch ANH entzogene Volumina und Volumenrückgabe des entsprechenden Kolloids in Absolutwerten

3.2.2 Blutvolumenstatus nach ANH

Im Folgenden wird der Messzeitpunkt nach abgeschlossener ANH, der durchschnittlich 120 Minuten nach Narkoseeinleitung und 30 Minuten nach Abschluss der ANH stattfand, dargestellt.

Alle Werte für Plasmavolumen, Erythrozytenvolumen und Hämatokrit wurden im Rahmen von Einzelmessungen erhoben. Die Messergebnisse der einzelnen Patienten sind in den Tabellen **3.2.2a** (HA-Gruppe) und **3.2.2.b** (HES-Gruppe) aufgeführt. Des Weiteren ist in den Tabellen der errechnete Ganzkörperhämatokrit (WBH) und der daraus ableitbare f-cell-Wert aller Patientinnen angegeben.

Tabelle 3.2.2a: HA-Gruppe

Patientin Nr.	PV-2 [ml]	RCV-2 [ml]	BV-2 [ml]	Hct-2 [Vol. %]	WBH-2 [Vol. %]	f-cell-2
3	3357	904	4261	24,37	21,22	0,871
4	3512	891	4403	24,63	20,24	0,841
5	3015	863	3878	24,43	22,25	0,911
6	3591	837	4428	23,91	18,90	0,766
7	4879	1116	5995	22,59	18,62	0,824
10	3550	938	4488	23,21	20,90	0,883
14	3429	798	4227	20,77	18,88	0,914
15	3205	828	4033	21,80	20,53	0,942
16	3767	784	4551	20,34	17,23	0,857
18	2902	590	3492	19,87	16,90	0,855
MW	3521	855	4376	22,59	19,57	0,866
SD	546	133	654	1,80	1,75	0,051
Min.	2902	590	3492	19,87	16,90	0,766
Max.	4879	1116	5995	24,63	22,25	0,942

Tabelle 3.2.2b: HES-Gruppe

Patientin Nr.	PV-2 [ml]	RCV-2 [ml]	BV-2 [ml]	Hct-2 [Vol. %]	WBH-2 [Vol. %]	f-cell-2
1	3188	601	3789	17,54	15,86	0,904
2	3226	903	4129	23,43	21,87	0,933
8	3455	969	4424	22,65	21,90	0,967
9	3369	755	4124	20,84	18,31	0,878
11	3247	735	3982	19,32	18,46	0,956
12	3102	674	3776	21,16	17,85	0,837
13	3820	806	4626	18,97	17,42	0,918
17	3911	1199	5110	25,78	23,46	0,910
19	2794	873	3667	26,28	23,81	0,924
20	3027	849	3876	24,67	21,90	0,899
MW	3314	836	4150	22,06	20,08	0,913
SD	343	168	451	2,99	2,80	0,037
Min.	2794	601	3667	17,54	15,86	0,837
Max.	3911	1199	5110	26,28	23,81	0,967

Tabelle 3.2.2a (HA-Gruppe) und **Tabelle 3.2.2b** (HES-Gruppe): Blutvolumen-Status nach ANH; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum; PV = Plasmavolumen; RCV = Erythrozytenvolumen; BV = Blutvolumen; Hct = Hämatokrit; WBH = Ganzkörperhämatokrit (whole body hematocrit); f-cell-2 = ermittelt aus simultaner Messung von PV-2, RCV-2 und Hct-2

Das mittlere gemessene PV-2 nach Abschluss der ANH betrug 3521 ± 546 ml in der HA-Gruppe bzw. 3314 ± 343 ml in der HES-Gruppe, entsprechend 1930 ± 201 ml/m² versus 1958 ± 194 ml/m² bezogen auf die Körperoberfläche.

Synchron zu der PV-2-Messung wurde das RCV (= RCV-2) gemessen. Das mittlere RCV-2 betrug 855 ± 133 ml in der HA-Gruppe und 836 ± 168 ml in der HES-Gruppe, entsprechend 55 ± 5 % beziehungsweise 58 ± 8 % vom Sollwert. Daraus ergibt sich ein mittleres BV nach ANH (BV-2; als Summe aus PV-2 und RCV-2) von 4376 ± 654 ml in der HA-Gruppe und 4150 ± 451 ml in der HES-Gruppe.

Der mittlere Hct-2 nach ANH betrug $22,6 \pm 1,8$ Vol. % in der HA-Gruppe und $22,1 \pm 3,0$ Vol. % in der HES-Gruppe. Das heißt, dass der **Ziel-Hämatokrit von 22 Vol. %** nach abgeschlossener ANH im Mittel sehr gut erreicht wurde.

Die Abnahme des Hct-2 gegenüber dem Hämatokrit vor ANH (Hct-1) war in beiden Gruppen statistisch signifikant ($p < 0,05$). Der Ganzkörperhämatokrit nach ANH (WBH-2) betrug $19,6 \pm 1,6$ Vol. % in der HA-Gruppe versus $20,1 \pm 2,8$ Vol. % in der HES-Gruppe. Der f-cell-2-Wert belief sich auf im Mittel $0,866 \pm 0,051$ in der HA-Gruppe bzw. $0,913 \pm 0,037$ in der HES-Gruppe. Die Änderung gegenüber f-cell-1 war nicht signifikant.

In **Tabelle 3.2.3** sind die Ergebnisse der gemessenen Veränderungen des PV (= PV-2) gegenüber dem PV vor Beginn der ANH (= PV-1) aufgeführt, inklusive der Veränderung (Δ RCV) von RCV-2 gegenüber RCV-1 (vor ANH) und der Veränderung (Δ BV) des BV-2 gegenüber BV-1 (vor ANH) nach Beendigung der ANH.

Daraus geht hervor, dass in beiden Gruppen das Plasmavolumen um etwa 450 ml nach beendeter ANH signifikant ($p < 0,05$) angestiegen war.

Tabelle 3.2.3

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 10)
Δ PV [ml]	454 ± 228 (181 - 787)	442 ± 268 (-218 - 715)
Δ RCV [ml]	491 ± 72 (367 - 584)	384 ± 78 (260 - 511)
Δ RCV minus Erythrozyten- entzug [ml]	$-35,7 \pm 40,5$ (-96,0 – 45,0)	$-20,9 \pm 27,4$ (-59,0 – 22,0)
Δ BV [ml]	-37 ± 275 (-359 - 357)	58 ± 232 (-478 – 361)
Volumeneffekt [%]	$85,4 \pm 16,1$ (68,7 – 108,7)	$90,4 \pm 18,1$ (48,6 – 110,9)

Tabelle 3.2.3: Veränderungen der Blutvolumina und Volumeneffekt der Kolloide: PV = Plasmavolumen; Δ PV = PV-2 minus PV-1; RCV = Erythrozytenvolumen; Δ RCV = RCV-1 minus RCV-2 ; BV = Blutvolumen; Δ BV = BV-2 minus BV-1; Volumeneffekt siehe Text

Das RCV nahm in der HA-Gruppe um rund 500 ml und in der HES-Gruppe um rund 400 ml ab. Diese Änderung des RCV-2 gegenüber dem RCV-1 war in beiden Gruppen statistisch signifikant ($p < 0,05$).

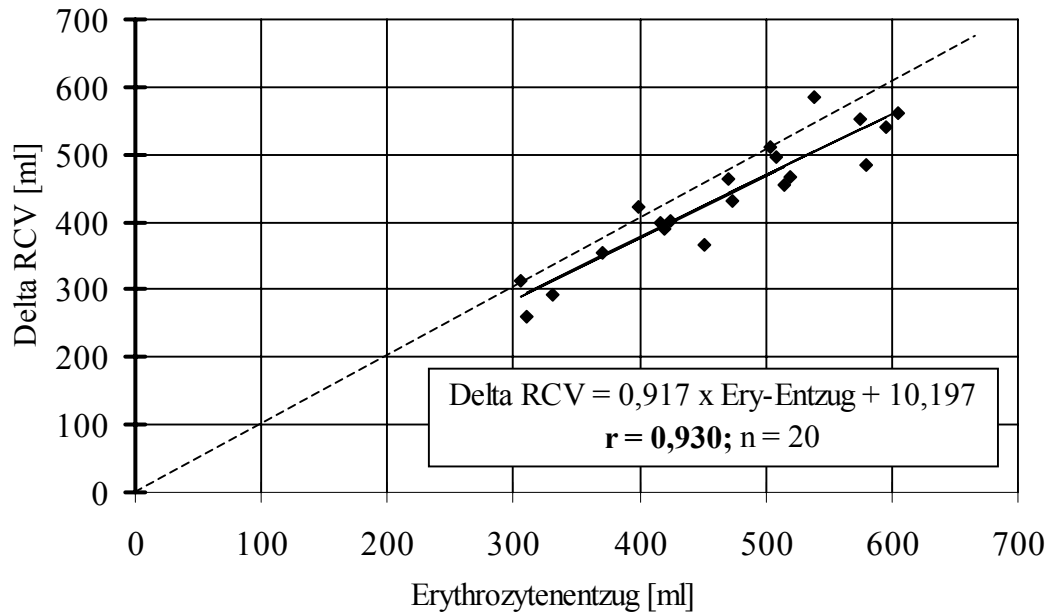
Die Übereinstimmung der gemessenen Veränderungen des RCV und dem berechneten Erythrozytenentzug (aus Beutelgewicht und Hämatokrit; Berechnung siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 4) ist ein Maß für die Präzision der RCV-Messmethode. Die mittlere Differenz zwischen Δ RCV und dem Erythrozytenentzug betrug im Gesamtkollektiv 28 ± 36 ml. Das bedeutet, dass die gemessenen Veränderungen des Δ RCV mit dem berechneten Erythrozytenentzug sehr gut übereinstimmen und keine systematische Veränderung von Δ RCV und Erythrozytenentzug vorlag. In **Abbildung 3.2.1** ist die Regressionsanalyse und der Bland-Altman-Plot für das gemessene Δ RCV gegen den berechneten Erythrozytenentzug dargestellt.

Die Regressionsgerade liegt dabei annähernd auf der (gestrichelten) Ideallinie. Der hohe Regressionskoeffizient ($> 0,9$) als auch der dazugehörige Bland-Altman-Plot (**Abbildung 3.2.1**) belegen die hohe Präzision der RCV-Messmethode.

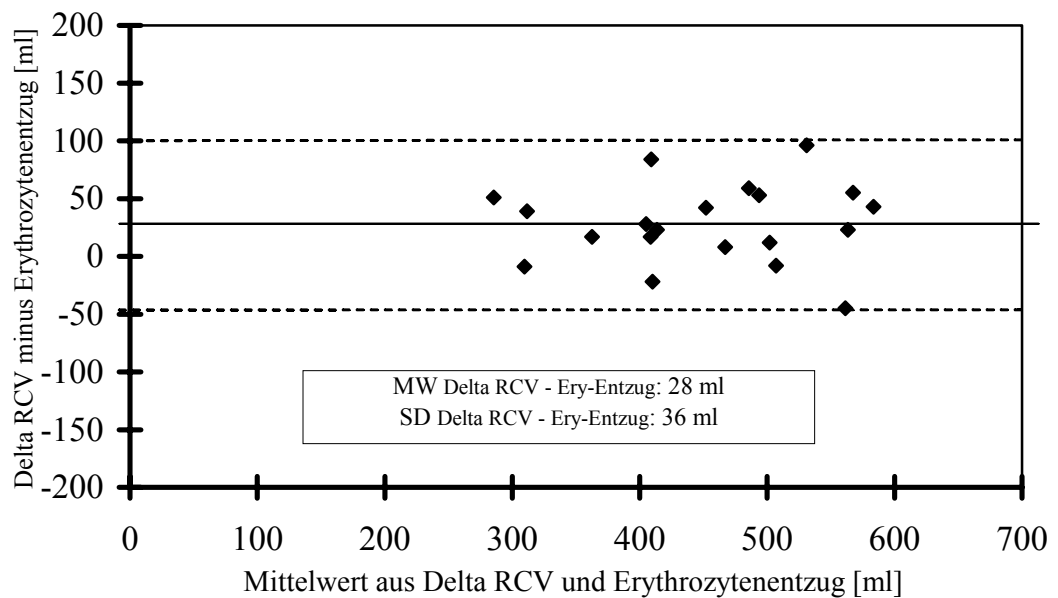
In Zahlen ausgedrückt:

Die Präzision (± 1 SD) lag bei $\pm 2,8 \%$ (± 1 SD / RCV-1 = 36 ml / 1283 ml).

Gesamtkollektiv: Delta RCV versus Erythrozytenentzug; Regressionsanalyse



Bland Altman-Plot



95 % Vertrauensbereich [- -]; mittlere Differenz (Delta RCV - Ery-Entzug) [—]

Abb. 3.2.1: Regressionsanalyse und Bland-Altman-Plot von RCV-1 minus RCV-2 (= Delta RCV) gegenüber dem berechneten Erythrozytenentzug (Ery-Entzug) aus Gewicht und Hämatokrit der Blutbeutel; SD = Standardabweichung der Differenzen; MW = Mittelwert der Differenzen

Aus **Tabelle 3.2.3** ist weiterhin ersichtlich, dass die als Δ BV bezeichnete Veränderung des BV-2 gegenüber dem BV-1 in beiden Gruppen äußerst geringfügig war: So verzeichneten wir in der HA-Gruppe eine geringfügige BV-Abnahme von 37 ± 275 ml, bei der HES-Gruppe jedoch eine leichte Zunahme von 58 ± 232 ml. BV-2 entsprach in der HA-Gruppe 99 % des Ausgangsblutvolumens (BV-1), in der HES-Gruppe 101 % von BV-1. **Das Blutvolumen war nach Abschluss der ANH in beiden Gruppen also nahezu unverändert.** Dies bestätigt das exakte Erreichen der Normovolämie.

Wie im Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 6 dargestellt, ließ sich der Volumeneffekt der verwendeten Kolloide aus der Veränderung des BV exakt quantifizieren. Es ergab sich für das Kolloid 5 % Humanalbumin ein Volumeneffekt von etwa **85 %** ($85,4 \pm 16,1$ %), für 6 % Hydroxyethylstärke ein Volumeneffekt von sogar etwa **90 %** ($90,4 \pm 18,1$ %) (siehe **Tabelle 3.2.3**). Dieses Ergebnis soll in der Diskussion noch ausführlich erörtert werden.

3.2.3 Protein- und HES-Status nach ANH

In **Tabelle 3.2.4** sind die Ergebnisse der Proteinbilanz nach abgeschlossener normovolämer Hämodilution (ANH), im einzelnen die Proteinkonzentration, die Menge an intravasalem Protein (= IVP) nach ANH, der Proteinentzug im Rahmen des Blutentzuges und die Proteinzufuhr (d.h. die im Kolloid enthaltene Proteinmenge) mittels der Volumenrückgabe in Form von 5 %-Humanalbumin (betrifft nur die HA-Gruppe) dargestellt.

In der HA-Gruppe betrug die mittlere Proteinkonzentration nach ANH (Prot-2) $58,0 \pm 2,7$ g/l und hatte sich demnach im Vergleich zur Ausgangs-Proteinkonzentration nicht verändert. Dies entsprach einer mittleren Proteinmenge von rund 200 g nach ANH.

Tabelle 3.2.4

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 10)
Prot-2 [g/l]	58,0 ± 2,7 (54,0 – 62,3)	37,5 ± 5,4 (32,6 – 51,8)
IVP-2 [g]	204 ± 34 (181 - 293)	125 ± 29 (104 - 203)
Δ IVP [g]	18,1 ± 14,9 (-1,2 – 42,5)	-56,2 ± 16,1 (-82,4 - -35,3)
Proteinentzug [g]	64,2 ± 11,4 (44,8 – 82,0)	46,7 ± 8,0 (31,0 – 57,7)
Proteinzufuhr [g]	92 ± 12 (75 - 110)	KEINE
Proteinbilanz für IVP [g]	-9,5 ± 17,9 (-33,2 – 15,9)	-9,4 ± 13,0 (-37,5 – 2,6)

Tabelle 3.2.4: Proteinstatus nach ANH: Prot = Proteinkonzentration; IVP = intravasales Protein; Δ IVP = IVP-2 minus IVP-1; Proteinentzug im Rahmen des Blutentzuges; Proteinzufuhr in Form von Volumenersatz mit 5 %- HA; Proteinbilanz für IVP siehe Text

Der Anstieg von IVP-2 nach ANH gegenüber IVP-1 vor ANH um etwa 18 g (= Δ IVP) in der HA-Gruppe war somit statistisch signifikant ($p < 0,05$). Dies kann mit der PV-Zunahme bei nahezu konstanter Proteinkonzentration erklärt werden. Allerdings hätte rein rechnerisch das IVP-2 sogar um 28 g ansteigen müssen, da im Rahmen der ANH zwar rund 64 g Protein entzogen wurden (Berechnung siehe Methodikteil 2.5.2 Formel Nr. 2), jedoch weit mehr, nämlich rund 92 g Protein in Form des Volumenersatzes mit 5 %-Humanalbumin zurückgegeben worden waren. Aus Proteinzufuhr und Proteinentzug im Rahmen der ANH und aus den Veränderungen der Menge an IVP kann die Proteinbilanz (Berechnung siehe Methodikteil 2.5.2 Formel Nr. 3) ermittelt werden. Das Ergebnis der mittleren Proteinbilanz für IVP ergab in der HA-Gruppe ein Defizit von rund 10 g Protein. Das bedeutet, dass ungefähr 11 % des zugeführten Proteins in der Blutbahn nicht mehr nachweisbar war.

Vergleicht man nun die beiden Gruppen miteinander, so zeigt sich, dass sowohl die mittlere Proteinkonzentration (= Prot-2) als auch Menge an IVP (= IVP-2) nach ANH in der HES-Gruppe signifikant niedriger ($p < 0,05$) war als in der HA-Gruppe. So betrug

die mittlere Proteinkonzentration nach ANH nur $37,5 \pm 5,4$ g/l in der HES-Gruppe, entsprechend einer IVP-Menge von rund 125 g. Es zeigte sich also eine starke und statistisch signifikante ($p < 0,05$) Abnahme von Prot-2 und IVP-2 nach ANH gegenüber den Messergebnissen vor ANH. Durch die normovoläme Hämodilution mit 6 %-Hydroxyethylstärke hatte die HES-Gruppe im Gegensatz zur HA-Gruppe **keine** Proteinzufuhr (siehe **Tabelle 3.2.4**) erhalten. Der Proteinentzug im Rahmen des Blutentzuges bei ANH betrug im Mittel rund 47 g in der HES-Gruppe. Dieser Proteinentzug erklärt somit nicht ausreichend den starken Abfall des intravasalen Proteins von rund 56 g in der HES-Gruppe. Wir errechneten daher in der Proteinbilanz der HES-Gruppe ebenfalls ein Defizit von fast 10 g Protein (Proteinbilanz für IVP = $-9,4 \pm 13,0$ g).

Tabelle 3.2.5

	HES-Gruppe n = 10
cHES-1 nach ANH [g/l]	$18,9 \pm 4,6$ (9,8 – 23,6)
IV- HES nach ANH [g]	$62,3 \pm 14,8$ (37,4 – 76,6)
HES-Zufuhr [g]	88 ± 15 (60 – 108)
HES-Bilanz intravasal [g]	$-25,8 \pm 9,0$ (-36,3 - -7,4)

Tabelle 3.2.5: cHES-1 = HES-Konzentration im Plasma nach ANH; IV-HES = intravasale Menge an HES nach ANH; HES-Zufuhr = Menge an infundiertem HES im Rahmen der ANH

Nach Abschluss der ANH wurde (ausschließlich) in der **HES-Gruppe** parallel zur PV-2-Messung die HES-Konzentration im Plasma (cHES-1) bestimmt. Das Ergebnis ist in **Tabelle 3.2.5** aufgeführt. Dabei zeigte sich eine HES-Konzentration von $18,9 \pm 4,6$ g/l. Dies entspricht einer intravasalen HES-Menge (IV-HES nach ANH) von rund 62 g. Das bedeutet, dass trotz einer Zufuhr von rund 88 g HES im Rahmen der ANH (siehe **Tabelle 3.2.5**) nur rund 62 g HES intravasal nachweisbar waren. Diese HES-Bilanz für ANH (Berechnung siehe Methodikteil 2.5.2 Formel Nr. 4) ergab somit ein deutliches Defizit von $-25,8 \pm 9,0$ g an HES (siehe **Tabelle 3.2.5**), das heißt, dass in der

HES-Gruppe neben dem Protein-Defizit von fast 10 g auch noch etwa 26 g an HES aus der Blutbahn „verschwunden“ waren.

Hauptbefunde nach Abschluss der ANH:

1. Bei ANH mit einem mittleren Blutentzug von rund 1600 ml in der HA-Gruppe bzw. rund 1300 ml (aufgrund etwas geringerer Körperoberfläche) in der HES-Gruppe und anschließender um 16 % höherer mittlerer Zufuhr an 5 %-HA bzw. 6 %-HES wird nach Abschluss der ANH absolute Normovolämie erreicht.
2. Dabei nahm das PV nach ANH in beiden Gruppen um etwa 450 ml zu.
3. Allerdings betrug das mittlere RCV nach ANH im Mittel nur noch 55 % (rund 860 ml) in der HA-Gruppe bzw. 58 % (rund 840 ml) in der HES-Gruppe vom Sollwert nach Haller. Dies entspricht einer RCV-Abnahme von fast 500 ml in der HA-Gruppe bzw. fast 400 ml in der HES-Gruppe nach ANH.
4. Der Hämatokrit war durch die ANH in beiden Gruppen fast exakt auf den Ziel-Hämatokrit von 22 Vol.% abgefallen.
5. Dabei hatte sich der f-cell-Wert durch die ANH in beiden Gruppen nicht signifikant geändert.
6. Die Proteinbilanz nach ANH ergab, dass in beiden Gruppen etwa 10 g an Protein im intravasalen Raum nicht mehr nachweisbar waren. In der HES-Gruppe fand sich zudem ein Defizit von 26 g HES nach ANH.
7. Es errechnete sich ein Volumeneffekt von etwa 85 % für 5 %-Humanalbumin und 90 % für 6 %-Hydroxyethylstärke.

3.3 Vor Retransfusion

3.3.1 Blutvolumenstatus vor Retransfusion

Ab dem Messzeitpunkt vor Retransfusion gelang es uns leider nicht mehr, bei der Patientin Nr. 19 der HES-Gruppe eine Kanüle in einer peripheren Arterie zu platzieren. Ein gut durchgängiger arterieller Zugang ist jedoch Grundvoraussetzung für die Anwendung der Vollblutmethode zur Plasmavolumenbestimmung. Bei dieser Patientin

waren somit keine weiteren Blutvolumenmessungen mehr möglich, so dass wir das HES-Kollektiv auf neun Patientinnen ($n = 9$) reduzieren mussten.

Der intraoperative Messzeitpunkt kurz vor der Retransfusion des gesamten bei ANH entnommenen autologen Blutes soll nun im folgenden Kapitel erläutert werden.

Die Retransfusion des autologen Blutes fand in den meisten Fällen in einer späten Phase der Operation, in welcher der größte Blutverlust bereits vorüber war, statt. Unmittelbar zuvor wurden bei jeder Patientin Einzelmessungen von Plasmavolumen (PV-3), Hämatokrit (Hct-3) und Plasmaproteinkonzentration (Prot-3), sowie – ausschließlich in der HES-Gruppe - von der HES-Plasmakonzentration (cHES-2) durchgeführt. Aus technischen Gründen konnte keine simultane RCV-Messung durchgeführt werden, sodass für das Gesamt-Blutvolumen und Erythrozytenvolumen zum Zeitpunkt vor Retransfusion nur theoretische Werte mit Hilfe eines mittleren f-cell Wertes von 0,89 errechnet werden konnten.

In den **Tabellen 3.3.1a** (HA-Gruppe) und **3.3.1b** (HES-Gruppe) sind die Ergebnisse der Messung vor Retransfusion des ANH-Blutes aller Patientinnen mit Ausnahme von Patientin Nr. 19 aufgeführt. Das mittlere PV-3 betrug 3218 ± 311 ml in der HA-Gruppe und 3362 ± 382 ml in der HES-Gruppe. Bezogen auf die Körperoberfläche sind das 1779 ± 243 ml/m² in der HA-Gruppe versus 1989 ± 272 ml/m² in der HES-Gruppe.

Die Änderung des Plasmavolumens (Δ PV siehe **Tabelle 3.3.2**) im Vergleich zum Messzeitpunkt nach ANH zeigte eine PV-Abnahme von rund 300 ml in der HA-Gruppe im Gegensatz zu einer unwesentlichen PV-Abnahme von knapp 10 ml in der HES-Gruppe. Das heißt, dass in der HA-Gruppe das PV-3 um rund 8 % bis zum Zeitpunkt vor Retransfusion abgefallen war, während das PV-3 in der HES-Gruppe nahezu unverändert ($-0,2 \pm 7,6$ %) im Vergleich zur Messung nach ANH geblieben war. Diese PV-Änderung war jedoch in beiden Gruppen **nicht** signifikant.

Tabelle 3.3.1a: HA-Gruppe

Patientin Nr.	PV-3 [ml]	EV-ICG-3 [ml]	BV- ICG-3 [ml]	Hct-3 [Vol. %]
3	3485	670	4155	18,11
4	3120	722	3842	21,12
5	3072	641	3713	19,39
6	3216	652	3868	18,93
7	3330	788	4118	21,50
10	3240	727	3967	20,60
14	3331	526	3857	15,32
15	3183	578	3761	17,28
16	3698	616	4314	16,04
18	2503	332	2835	13,16
MW	3218	625	3843	18,15
SD	311	128	401	2,71
Min.	2503	332	2835	13,16
Max.	3698	788	4314	21,50

Tabelle 3.3.1b: HES-Gruppe (ohne Patientin Nr. 19)

Patientin Nr.	PV-3 [ml]	EV-ICG-3 [ml]	BV- ICG-3 [ml]	Hct-3 [Vol. %]
1	3137	476	3613	14,79
2	3011	699	3710	21,18
8	3433	562	3995	15,80
9	3437	572	4009	16,03
11	2930	403	3333	13,59
12	3642	474	4116	12,93
13	3859	668	4527	16,59
17	3889	914	4803	21,38
20	2924	798	3722	24,09
MW	3362	618	3981	17,38
SD	382	166	459	3,89
Min.	2924	403	3333	12,93
Max.	3889	914	4803	24,09

Tabelle 3.3.1a (HA-Gruppe) und **Tabelle 3.3.1b** (HES-Gruppe): Blutvolumen-Status vor Retransfusion; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum; PV = Plasmavolumen; EV-ICG = aus alleiniger PV-Messung, Hct und f-cell = 0,89 errechnetes Erythrozytenvolumen; BV-ICG = aus PV, Hct und f-cell = 0,89 errechnetes Blutvolumen; Hct = Hämatokrit

Der mittlere f-cell-Wert wurde, wie bereits erwähnt, auf 0,89 festgesetzt, so dass sich hiermit das theoretische Erythrozytenvolumen EV-ICG-3 nach der Formel

$$\text{EV-ICG-3} = [\text{PV-3} \times 100 / (100 - \text{Hct-3} \times 0,89)] - \text{PV-3}$$

errechnen ließ. Es ergab sich ein theoretisches EV-ICG-3 von 625 ± 128 ml in der HA-Gruppe und 618 ± 166 ml in der HES-Gruppe. Dieses Erythrozytenvolumen liegt in beiden Gruppen um rund 200 ml ($p < 0,05$) unter dem nach ANH gemessenen RCV-2 (Δ EV siehe **Tabelle 3.3.2**).

Mittels Addition des EV-ICG-3-Wertes zum gemessenen PV-3 erhielten wir das theoretische Blutvolumen BV-ICG-3, welches im Mittel 3843 ± 401 ml in der HA-Gruppe bzw. 3981 ± 459 ml in der HES-Gruppe (siehe **Tabellen 3.3.1a** und **3.3.1b**) betrug. In der HA-Gruppe entspricht das einem Blutvolumen von nur noch 87 % im Vergleich zum Ausgangs-Blutvolumens vor ANH (= BV-1), was eine signifikante ($p < 0,05$) BV-Abnahme von rund 500 ml darstellt (Δ BV siehe **Tabelle 3.3.2**). Im Gegensatz dazu fanden wir keine signifikante Abnahme des Blutvolumens in der HES-Gruppe: Hier lag das errechnete BV-ICG-3 bei immerhin 97 % vom Ausgangs-Blutvolumens vor ANH entsprechend einer BV-Abnahme von etwa 170 ml.

Der durchschnittliche Hämatokrit (siehe **Tabellen 3.3.1a** und **3.3.1b**) unmittelbar vor Retransfusion (Hct-3) lag in der HA-Gruppe bei $18,2 \pm 2,7$ Vol.% respektive $17,4 \pm 3,9$ Vol.% in der HES-Gruppe und somit nahe am geplanten Retransfusionstrigger. In beiden Gruppen war der Hämatokrit signifikant ($p < 0,05$) abgefallen bezogen auf die Messung nach ANH.

Tabelle 3.3.2

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 9)
$\Delta PV = PV-3 \text{ minus } PV-2$ [ml]	-303 ± 479 (-1549 - 128)	-9 ± 239 (-317 - 540)
$\Delta EV = EV-ICG-3 \text{ minus } RCV-2$ [ml]	-230 ± 50 (-328 - -168)	-214 ± 111 (-407 - 51)
$\Delta BV = BV-ICG-3 \text{ minus } BV-2$ [ml]	-533 ± 508 (-1877 - -106)	-223 ± 278 (-649 - 340)

Tabelle 3.3.2: Änderung des Plasmavolumens (ΔPV), des Erythrozytenvolumens (ΔEV) und des Gesamtblutvolumens (ΔBV) im Vergleich zum Messzeitpunkt nach ANH

Der intraoperative Retransfusionstrigger war zu Studienbeginn auf einen Hämatokrit von 18 Vol. % festgelegt worden. Dieser wurde von 8 Patientinnen (n = 5 in der HA-Gruppe, n = 3 in der HES-Gruppe) bei niedrigerem Blutverlust nicht erreicht, so dass sie das autologe Blut erst am Operationsende retransfundiert bekamen. Keine der Patientinnen hatte bis zum Messzeitpunkt vor Retransfusion homologes Blut erhalten. Mittels einer exakten Infusionsstrategie wurde die Menge an intraoperativ infundierten Kristalloiden fortwährend an den aktuellen Blutverlust und die aktuelle Urinproduktion nach folgender Gleichung adaptiert:

$$\text{Zielmenge der Kristalloidinfusion} = \text{geschätzter Blutverlust} \times 5 + \text{Urinproduktion}$$

Lediglich bei 3 Patientinnen (n = 3 in der HA-Gruppe, n = 0 in der HES-Gruppe) deuteten die hämodynamischen Parameter auf intraoperative Hypovolämie hin, sodass wir 250 ml Kolloid zusätzlich infundierten.

In **Tabelle 3.3.3** ist die Kristalloidzufuhr, das ausgeschiedene Urinvolumen und die Veränderung des ΔEZR , als Differenz aus beiden, dargestellt. Die Zufuhr an Kristalloiden belief sich zum Messzeitpunkt vor Retransfusion in beiden Gruppen auf mehr als 6 Liter. Das mittlere ausgeschiedene Urinvolumen betrug 1380 ± 516 ml in der HA-Gruppe bzw. 1256 ± 642 ml in der HES-Gruppe.

Weiterhin ist in **Tabelle 3.3.3** der mittlere Hämatokrit, der während der Blutung gemessen wurde, als sog. Hct-m aufgeführt. Hct-m betrug in beiden Gruppen rund

20 Vol.%. Damit lässt sich ein durchschnittlicher intraoperativer Blutverlust mittels durch PV-3-Messung kalkulierbarem Δ EV errechnen (Berechnung siehe Methodikteil 2.5.1 Formel Nr. 8). Dieser chirurgische Blutverlust betrug in der HA-Gruppe 1148 ± 290 ml versus 1131 ± 703 ml in der HES-Gruppe. Der unabhängig von dieser Berechnung zwischen Operationsbeginn und Zeitpunkt der Retransfusion geschätzte Blutverlust lag bei 1130 ± 301 ml in der HA-Gruppe beziehungsweise 1167 ± 606 ml in der HES-Gruppe (siehe **Tabelle 3.3.3**). Dies zeigt, dass der operative Blutverlust zum Zeitpunkt vor Retransfusion sehr zutreffend eingeschätzt worden war.

Aus dem gemessenen chirurgischen Blutverlust lässt sich (Berechnung siehe Methodikteil 2.5.3 Formel Nr. 1c) der intraoperative blutungsbedingte Verlust an Plasmavolumen bestimmen. Dieser betrug, wie aus **Tabelle 3.3.3** ersichtlich, in beiden Gruppen rund 900 ml.

Tabelle 3.3.3

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 10)
Kristalloidinfusion [ml]	6030 ± 811 (4200 – 6800)	6200 ± 2224 (1700 – 9200)
Urin-Ausscheidung [ml]	1380 ± 516 (800 – 2600)	1256 ± 642 (500 – 2300)
Δ EZR [ml]	4650 ± 999 (3000 – 5900)	4944 ± 1815 (1100 – 7400)
geschätzter Blutverlust [ml]	1130 ± 301 (500 – 1500)	1167 ± 606 (200 – 2000)
Hct-m [Vol.%]	$20,3 \pm 2,2$ (16,3 – 22,9)	$19,6 \pm 3,0$ (16,0 – 24,4)
gemessener Blutverlust [ml]	1148 ± 290 (736 - 1582)	1131 ± 703 (-324 - 2036)
gemessener Plasmaverlust [ml]	918 ± 246 (568 - 1324)	920 ± 572 (-245 - 1642)

Tabelle 3.3.3: Kristalloidinfusion; Urin-Ausscheidung; Änderung des Extrazellulärspaces (Δ EZR); mittlerer, während der Blutung gemessener Hämatokrit (Hct-m); gemessener Blutverlust; gemessener Plasmaverlust (alle Werte als Mittelwerte \pm Standardabweichung mit Streubreiten in Klammern)

3.3.2 Protein- und HES-Status vor Retransfusion

In der **Tabelle 3.3.4** sind die gemessenen Proteinkonzentrationen und die intravasale Proteinmenge zum Zeitpunkt vor Retransfusion (Prot-3 und IVP-3) im Vergleich zum Messzeitpunkt nach abgeschlossener ANH (Prot-2 und IVP-2) aufgeführt. Alle Werte sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung mit deren Streubreiten in Klammern aufgeführt.

Tabelle 3.3.4

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 9)
Prot-3 [g/l]	40,0 \pm 5,1 (31,3 – 50,0)	28,1 \pm 6,2 (20,1 – 40,4)
Δ Prot [g/l]	-16,6 \pm 6,8 (-28,0 – -1,7)	-10,1 \pm 3,1 (-14,7 – -5,5)
Δ Prot [%]	-31,2 \pm 8,2 (-44,9 – -16,7)	-24,7 \pm 11,2 (-42,2 – -4,6)
IVP-3 [g]	129 \pm 22 (86 – 167)	95 \pm 27 (70 – 157)
Δ IVP [g]	-75,4 \pm 22,3 (-126,2 – -52,8)	-34,7 \pm 9,3 (-50,0 – -24,3)
Δ IVP [%]	-36,7 \pm 7,7 (-52,5 – -29,1)	-25,3 \pm 9,5 (-41,6 – -7,8)

Tabelle 3.3.4: Prot-3 = gemessene Proteinkonzentrationen zum Zeitpunkt vor Retransfusion; Prot-2 = gemessene Proteinkonzentrationen zum Zeitpunkt nach ANH; Δ Prot = Prot-3 minus Prot-2; IVP-3 = intravasale Proteinmenge zum Zeitpunkt vor Retransfusion; IVP-2 = intravasale Proteinmenge zum Zeitpunkt nach ANH; Δ IVP = IVP-3 minus IVP-2

Die mittlere Proteinkonzentration betrug zum Zeitpunkt vor Retransfusion (Prot-3) 40,0 \pm 5,1 g/l in der HA-Gruppe und 28,1 \pm 6,2 g/l in der HES-Gruppe. Damit war die Proteinkonzentration im Vergleich zum Zeitpunkt nach abgeschlossener ANH in der HA-Gruppe um rund 31 % und in der HES-Gruppe um rund 25 % (entsprechend -16,6 \pm 6,8 g/l und -10,1 \pm 3,1 g/l) statistisch signifikant ($p < 0,05$) abgefallen.

Zudem zeigte sich noch eine statistisch signifikant ($p < 0,05$) höhere Abnahme von Prot-3 in der HA-Gruppe verglichen mit der Abnahme in der HES-Gruppe.

Die mittlere Menge an intravasalem Protein vor Retransfusion (IVP-3) lag in der HA-Gruppe bei rund 129 g und – statistisch signifikant geringer ($p < 0,05$) – in der HES-Gruppe bei rund 95 g. Im Vergleich zum Messzeitpunkt nach ANH (IVP-2) ergab sich eine statistisch signifikante ($p < 0,05$) Abnahme von ca. 37 %, nämlich rund 75 g Protein in der HA-Gruppe bzw. 25 %, also rund 30 g in der HES-Gruppe.

Das Plasmavolumen steht mit dem intravasalem Protein durch eine mathematische Verknüpfung (siehe Methodikteil **2.5.2** Formel Nr. 1) in enger Beziehung. Folglich ist es bei der erheblichen IVP-Abnahme vor Retransfusion nicht weiter erstaunlich, dass das PV-3 trotz Infusion von rund sechs Litern Kristalloiden bei einem Blutverlust von etwa 1100 ml nicht angestiegen war, was jedoch beim Verlust von Erythrozyten durch chirurgische Blutung durchaus wünschenswert gewesen wäre.

Parallel zur PV-3-Messung wurde in der HES-Gruppe zum Messzeitpunkt vor Retransfusion die HES-Konzentration im Plasma (cHES-2) bestimmt. Das Ergebnis ist in **Tabelle 3.3.5** aufgeführt. Dabei zeigte sich eine signifikant ($p < 0,05$) abgefallene HES-Konzentration (cHES-2) von $8,8 \pm 3,0$ g/l. Dies entspricht einer intravasalen HES-Menge (IV-HES vor Retransfusion) von rund 29 g, die ebenfalls statistisch signifikant ($p < 0,05$) geringer war als zum Zeitpunkt nach ANH. Verglichen mit dieser Messung (IV-HES nach ANH = rund 62 g) zeigt sich ein deutliches Defizit an intravasalem HES von rund 33 g. Nach abgeschlossener ANH hatte keine der Patientinnen weitere HES-Infusionen erhalten.

Tabelle 3.3.5

	HES-Gruppe n = 10
cHES-2 vor Retransfusion [g/l]	8,8 ± 3,0 (4,8 – 13,8)
Δ cHES [g/l]	-10,8 ± 4,1 (-18,3 - -5,0)
IV- HES vor Retransfusion [g]	29,1 ± 8,1 (15,4 – 41,6)
Δ IV- HES [g]	-33,1 ± 13,0 (-61,2 - -19,1)
HES-Zufuhr [g]	KEINE
HES-Bilanz intravasal [g]	-36,1 ± 13,0 (-61,2 - -19,1)
chirurgischer HES-Verlust [g]	11,8 ± 9,5 (-3,6 – 24,4)
cHES-m [g/l]	14,2 ± 3,2 (7,3 – 18,7)

Tabelle 3.3.5: cHES-2 = HES-Konzentration im Plasma vor Retransfusion; cHES-1 = HES-Konzentration im Plasma nach ANH; Δ cHES = cHES-2 minus cHES-1; IV- HES = intravasalen HES-Menge; Δ IV- HES = IV- HES vor Retransfusion minus IV- HES nach ANH

Hauptbefunde zum Messzeitpunkt vor Retransfusion:

1. Insgesamt waren in beiden Gruppen mehr als 6 Liter an Kristalloiden infundiert worden bei einem geschätzten Blutverlust von ca. 1100 ml.
2. Das mittels f-cell = 0,89 berechnete Erythrozytenvolumen betrug 625 ± 128 ml in der HA-Gruppe und 618 ± 166 ml in der HES-Gruppe. Dies entspricht einer signifikanten Abnahme von rund 200 ml in beiden Gruppen verglichen mit der Messung nach ANH.
3. Dabei war das Plasmavolumen im Vergleich zur Messung nach ANH in der HES-Gruppe nahezu konstant geblieben, während es in der HA-Gruppe um ca. 300 ml abgefallen war.

4. Das Blutvolumen ist in der HA-Gruppe signifikant (verglichen mit dem Messzeitpunkt nach ANH) um etwa 530 ml auf 87 % des Ausgangs-Blutvolumens abgefallen und betrug 3843 ± 401 ml. In der HES-Gruppe belief sich das Blutvolumen mit 3981 ± 459 ml auf 97 % des Ausgangs-Blutvolumens entsprechend einer Abnahme von nur ca. 170 ml.
5. Der durchschnittliche Hämatokrit hatte sich signifikant verringert bezogen auf die Messung nach ANH und lag in beiden Gruppen sehr nahe am geplanten Retransfusionstrigger von 18 Vol.%.
6. Das IVP hatte in beiden Gruppen (statistisch signifikant) erheblich abgenommen: In der HA-Gruppe um etwa 75 g bzw. 37 % auf rund 129 g und in der HES-Gruppe um ca. 30 g bzw. 25 % auf rund 95 g. Die Protein-Abnahme war jeweils signifikant höher in der HA-Gruppe als in der HES-Gruppe.
7. In der HES-Gruppe hatte die intravasale HES-Menge um etwa 33 g abgenommen und lag bei rund 29 g entsprechend einer HES-Konzentration von $8,8 \pm 3,0$ g/l.

3.4 Nach Operationsende

3.4.1 Blutvolumenstatus nach Operationsende

Nach Operationsende, durchschnittlich 280 Minuten nach Operationsbeginn führten wir nach Schließen der Hautnaht und nachdem das gesamte bei ANH entnommene autologe Blut retransfundiert worden war, bei den noch in Narkose befindlichen Patientinnen eine abschließende Messreihe durch. Dieser Messzeitpunkt nach Operationsende beinhaltete die PV-Doppelmessung PV-4 (= Mittelwert der im Abstand von durchschnittlich 30 Minuten durchgeführten Messungen PV-4a und PV-4b), simultan dazu die Hämatokrit-Doppelmessung Hct-4 (= Mittelwert der Messungen Hct-4a und Hct-4b) und eine RCV-Messung (= RCV-3 zeitgleich mit PV-4a). Intraoperativ hatte keine Patientin Fremdblut erhalten. Am ersten postoperativen Tag bekamen drei Patientinnen jeweils 1 – 2 Erythrozytenkonzentrate auf unserer Intensivstation.

In den **Tabellen 3.4.1a** (HA-Gruppe, n = 10) und **3.4.1b** (HES-Gruppe, n = 9) sind die Ergebnisse der postoperativen Messungen sowie das aus der Addition von PV-4 und RCV-3 abzuleitende postoperative Blutvolumen BV-4 aufgeführt. Weiterhin ist aus den Tabellen der Ganzkörperhämatokrit (WBH-3) und der f-cell-3 Wert ersichtlich.

Wie in den **Tabellen 3.4.2a und 3.4.2b** dargestellt, fanden sich bezogen auf die Körperoberfläche im BV, PV, und RCV nach Operationsende keine signifikanten Unterschiede im Vergleich beider Gruppen.

PV-4 betrug im Mittel 3673 ± 319 ml in der HA-Gruppe und 3510 ± 546 ml in der HES-Gruppe. Das durchschnittliche PV-4 lag dabei um 45 % (HA-Gruppe) bzw. 48 % (HES-Gruppe) über dem Plasmavolumen-Sollwert nach Pearson (1395 ml/m^2). Das simultan zu PV-4 gemessene RCV-3 betrug in der HA-Gruppe im Mittel 986 ± 181 ml. Dies entspricht nur etwa 64 % des Soll-Erythrozytenvolumens nach Haller (848 ml/m^2). In der HES-Gruppe wurde ein mittleres RCV-3 von 861 ± 221 ml gemessen, was sogar nur ca. 59 % des Soll-Erythrozytenvolumens darstellt.

Aus den Messergebnissen von PV-4 und RCV-3 ließ sich durch Addition der Werte das Blutvolumen nach Operationsende ermitteln. In der HA-Gruppe belief sich das mittlere BV-3 auf 4659 ± 432 ml, in der HES-Gruppe auf 4371 ± 692 ml. Das durchschnittliche BV-3 lag somit in beiden Gruppen im Mittel um etwa 15 % über dem Soll-Blutvolumen nach Pearson und Haller (2243 ml/m^2).

Tabelle 3.4.1a: HA-Gruppe

Patientin Nr.	PV-4 [ml]	RCV-3 [ml]	BV-4 [ml]	Hct-4 [Vol. %]	WBH-3a [Vol. %]	f-cell-3a
3	3466	1122	4588	25,87	24,46	0,945
4	3993	1115	5108	25,48	21,83	0,857
5	4046	880	4926	23,52	18,42	0,783
6	3504	988	4492	24,93	22,66	0,909
7	3981	958	4939	25,39	17,88	0,704
10	3704	1152	4856	26,32	23,36	0,887
14	3731	1049	4780	23,80	20,93	0,879
15	3505	1133	4638	26,44	25,63	0,969
16	3803	910	4713	21,27	18,92	0,890
18	2997	550	3547	20,28	15,40	0,759
MW	3673	986	4659	24,33	20,95	0,858
SD	319	181	432	2,12	3,24	0,084
Min.	2997	550	3547	20,28	15,40	0,704
Max.	4046	1152	5108	26,44	25,63	0,969

Tabelle 3.4.1b: HES-Gruppe (ohne Patientin Nr. 19)

Patientin Nr.	PV-4 [ml]	RCV-3 [ml]	BV-4 [ml]	Hct-4 [Vol. %]	WBH-3 [Vol. %]	f-cell-3
1	3148	656	3804	18,91	18,03	0,954
2	3613	1282	4895	27,34	26,39	0,965
8	3170	956	4012	26,90	22,85	0,850
9	3500	801	4301	21,98	18,74	0,853
11	3307	721	4028	19,27	17,61	0,914
12	2956	612	3568	21,07	16,83	0,799
13	4695	1000	5695	22,36	17,49	0,782
17	4006	1030	5036	24,03	20,27	0,843
20	3311	687	3998	29,44	23,07	0,784
MW	3523	861	4371	23,48	20,14	0,860
SD	535	221	692	3,81	3,27	0,070
Min.	2956	612	3568	18,91	16,83	0,782
Max.	4695	1282	5695	29,44	26,39	0,965

Tabelle 3.4.1a (HA-Gruppe) und **Tabelle 3.4.1b** (HES-Gruppe): Blutvolumen-Status nach Operationsende; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum; PV-4 = Mittelwert der PV-Doppelmessung; RCV-3 = postoperative RCV-Messung; BV-4 = postoperatives Blutvolumen (= Summe aus PV-4 und RCV-3); Hct-4 = Mittelwert der Hämatokrit-Doppelmessung; f-cell-3 = postoperativer f-cell-Wert; WBH-3 = postoperativer Ganzkörperhämatokrit (whole body hematocrit)

Das Ergebnis der Hämatokrit-Doppelmessung Hct-4 betrug im Durchschnitt in der HA-Gruppe $24,33 \pm 2,12$ Vol.% und in der HES-Gruppe $23,52 \pm 3,76$ Vol.%. Im Vergleich zum Messzeitpunkt vor Retransfusion war der Hämatokrit in beiden Gruppen um rund 6 Vol.% angestiegen. Dabei lag der large-vessel-Hämatokrit (Hct-4) rund 3 Vol.% über dem errechneten Ganzkörperhämatokrit (WBH-3) (siehe **Tabellen 3.4.1a** und **3.4.1b**).

Tabelle 3.4.2a: HA-Gruppe

Einheit	PV-4	RCV-3	BV-4
[ml/m ²]	2028 ± 228 (1726 - 2359)	542 ± 97 (343 - 645)	2569 ± 280 (2142 - 2924)
Soll%	145 ± 16 (124 - 169)	64 ± 11 (41 - 76)	114 ± 11 (96 - 128)

Tabelle 3.4.2b: HES-Gruppe

Einheit	PV-4	RCV-3	BV-4
[ml/m ²]	2070 ± 295 (1501 - 2644)	500 ± 88 (415 - 684)	2570 ± 322 (1971 - 3207)
Soll%	148 ± 21 (108 - 190)	59 ± 10 (49 - 81)	115 ± 14 (88 - 143)

Tabelle 3.4.2a (HA-Gruppe) und **Tabelle 3.4.2b** (HES-Gruppe): Mittelwerte \pm Standardabweichungen, Streubreiten in Klammern von PV-4, RCV-3 und BV-4 in der HES-Gruppe bezogen auf die Körperoberfläche [ml / m²], sowie als % vom Sollwert nach Pearson bzw. Haller

In **Abbildung 3.4.1** ist die lineare Regression des RCV-3 gegen Hct-4 zum Zeitpunkt nach Operationsende dargestellt.

Gesamtkollektiv: RCV-3 versus Hct-4 Regressionsanalyse

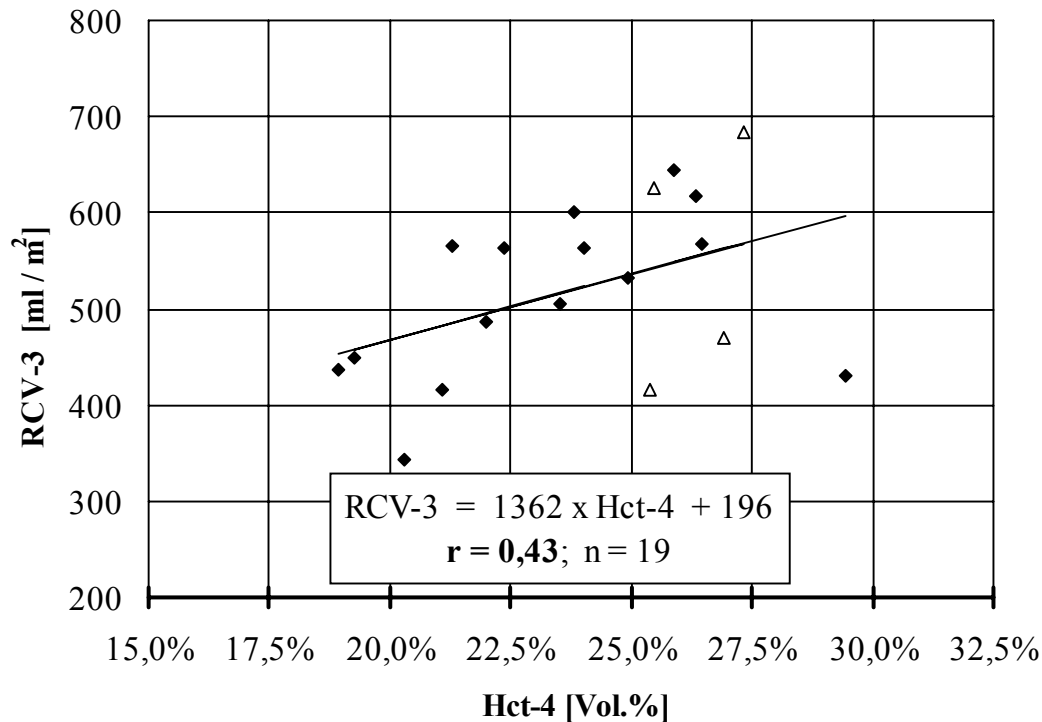


Abb. 3.4.1: Regressionsanalyse von RCV-3 versus Hct-4 zum Zeitpunkt nach Operationsende. Die weißen Dreiecke stellen die im Text erwähnten Patientinnen mit gleichen Hct-Werten und verschiedenen RCV-Werten dar.

Allein der Regressionskoeffizient von nur 0,43 zeigt schon, dass es zu großen Fehleinschätzungen führen kann, wenn mittels dieser Beziehung vom Hämatokrit-Wert auf die Größe des RCV geschlossen wird. Beispielweise ist aus der Abbildung ersichtlich, dass eine der Patientinnen aus der HA-Gruppe bei einem Hct-4 von etwa 25 Vol.% ein RCV-3 von 626 ml/m² hatte, eine andere Patientin aus derselben Gruppe jedoch bei gleichem Hämatokrit ein RCV-3 von nur 415 ml/m² aufwies.

In der HES-Gruppe verhielt es sich nicht anders: Während eine Patientin mit einem Hct-4 von etwa 27 Vol.% ein RCV-3 von 684 ml/m² aufwies, hatte eine andere Patientin bei diesem Hämatokrit gerade mal ein RCV-3 von 470 ml/m², was in Absolutzahlen einer Differenz von mehr als 320 ml Erythrozyten entsprach.

Mit Hilfe des Hct-4-Wertes ließ sich auch der f-cell-3-Wert zum Zeitpunkt nach Operationsende (siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 2) bestimmen: Für die HA-Gruppe ergab sich ein mittleres postoperatives f-cell-3 von $0,858 \pm 0,084$, für die HES-Gruppe betrug f-cell-3 durchschnittlich $0,860 \pm 0,070$. Das bedeutet, dass der f-cell-Wert in beiden Gruppen nur unwesentlich abgefallen war im Vergleich zum f-cell-Wert vor Retransfusion.

Tabelle 3.4.3

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 9)
$\Delta PV = PV-4 \text{ minus } PV-1 \text{ [ml]}$	606 ± 485 (-112 - 1463)	598 ± 413 (-158 - 1163)
$\Delta RCV = RCV-3 \text{ minus } RCV-1 \text{ [ml]}$	-360 ± 157 (-625 – -143)	-364 ± 145 (-593 – -132)
$\Delta BV = BV-4 \text{ minus } BV-1 \text{ [ml]}$	246 ± 592 (-737 - 1089)	234 ± 473 (-432 - 936)

Tabelle 3.4.3: PV-1 = PV-Doppelmessung vor ANH; PV-4 = PV-Doppelmessung nach Operationsende; ΔPV = Differenz aus PV-4 und PV-1; RCV-1 = RCV-Messung vor ANH; RCV-3 = RCV-Messung nach Operationsende; ΔRCV = Differenz aus RCV-3 und RCV-1; BV-1 = Blutvolumen vor ANH; BV-4 = Blutvolumen nach Operationsende; ΔBV = Differenz aus BV-4 und BV-1

Diese Ergebnisse aus dem Messzeitpunkt nach Operationsende wurden nun im Folgenden mit den Ausgangswerten vor ANH verglichen. Die Änderungen der jeweiligen Volumina sind in **Tabelle 3.4.3** dargestellt.

Im Vergleich zur Messung vor ANH ist das PV in beiden Gruppen um rund 600 ml angestiegen. Diese PV-Zunahme (= ΔPV) ist in beiden Gruppen statistisch signifikant ($p < 0,05$). Vergleicht man das postoperative RCV mit dem vor ANH gemessenen, so zeigt sich, dass das RCV in beiden Gruppen statistisch signifikant ($p < 0,05$) um etwa 360 ml abgefallen war (= ΔRCV). Das BV hat sich dahingehend verändert, dass in der HA-Gruppe ein Anstieg von rund 250 ml und in der HES-Gruppe von rund 230 ml im Vergleich zur Messung vor ANH zu verzeichnen war. In der HA-Gruppe entspricht das BV-3 somit 106 %, in der HES-Gruppe sogar 107 % des Ausgangs-Blutvolumens.

Der Hämatokrit war nach Operationsende deutlich abgefallen: Nachdem der Hämatokrit vor ANH noch rund 36 % (HA-Gruppe) bzw. 35 % (HES-Gruppe) betrug, lag der Hct-4 bei nur noch etwa 24 % in beiden Gruppen. Es zeigte sich hier also eine statistisch signifikante ($p < 0,05$) Abnahme. Der f-cell-Wert hingegen hatte sich, vergleicht man den Messzeitpunkt nach Operationsende mit der Messung vor ANH, in beiden Gruppen nur wenig verändert: In der HA-Gruppe war er von rund 0,84 auf knapp 0,86 leicht angestiegen. Mit einem nur minimalen Abfall war f-cell in der HES-Gruppe mit rund 0,86 ebenfalls nahezu gleich geblieben.

3.4.2 Protein- und HES-Status nach Operationsende

Im Folgenden sind die Messergebnisse der Proteinbestimmung zum Messzeitpunkt nach Operationsende aufgeführt (siehe **Tabelle 3.4.4**). Es handelt sich dabei um die Mittelwerte aus den postoperativ durchgeführten Doppelmessungen.

Tabelle 3.4.4

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 9)
Prot-4 [g/l]	47,4 ± 4,5 (40,6 – 56,0)	35,6 ± 4,1 (28,9 – 41,5)
IVP-4 [g]	174 ± 24 (142 - 223)	126 ± 28 (91 – 172)
Δ IVP [%]	-5,0 ± 15,5 (-21,1 – 23,0)	-32,1 ± 10,4 (-45,4 – -20,2)

Tabelle 3.4.4: Proteinstatus der HA-Gruppe und der HES-Gruppe nach Operationsende; Prot-4 = Proteinkonzentration nach Operationsende; IVP-4 = intravasales Protein nach Operationsende; Δ IVP = Änderung von der Menge an intravasalem Protein im Vergleich zum Messzeitpunkt vor ANH

Durch die Rückgabe der im Rahmen der ANH entzogenen Plasmaproteinmenge von rund 64 g in der HA-Gruppe und rund 46 g in der HES-Gruppe stiegen sowohl die Plasmaproteinkonzentration als auch die Menge an intravasalem Protein in beiden Gruppen im Vergleich zum Messzeitpunkt vor Retransfusion deutlich an.

Wie aus **Tabelle 3.4.4** ersichtlich, belief sich die postoperative Proteinkonzentration (= Prot-4) in der HA-Gruppe auf durchschnittlich $47,4 \pm 4,5$ g/l, entsprechend einem IVP von rund 174 g nach Operationsende. Im Vergleich zum Messzeitpunkt vor Retransfusion verzeichnete sich in der HA-Gruppe somit eine Zunahme von rund 45 g Protein. Gleichzeitig zeigte sich in dieser Gruppe aber auch eine IVP-Abnahme von rund 12 g nämlich etwa 5 % im Vergleich zum Messzeitpunkt vor ANH. In der HES-Gruppe lag die postoperative Proteinkonzentration nur bei mittleren $35,6 \pm 4,1$ g/l, entsprechend einem IVP von rund 126 g nach Operationsende (siehe **Tabelle 3.4.4**). Verglichen mit dem Messzeitpunkt vor Retransfusion war die Proteinmenge also um etwa 31 g angestiegen. Allerdings bedeutete das in der HES-Gruppe im Vergleich zur präoperativen Messung auch eine deutliche Abnahme von rund 55 g an Protein, also etwa 32 % der Ausgangsproteinmenge. Somit waren sowohl die Proteinkonzentration im Plasma als auch das Gesamtprotein zum Zeitpunkt nach Operationsende in beiden Gruppen statistisch signifikant abgefallen ($p < 0,05$) im Vergleich zu den Ausgangsmessungen vor ANH. Dabei zeigte sich eine statistisch signifikant ($p < 0,05$) höhere Protein-Abnahme in der HES-Gruppe als in der HA-Gruppe. Diese Messergebnisse sollen im Kapitel Plasmabilanz noch ausführlicher erläutert werden.

Neben den Proteinbestimmungen wurden in der HES-Gruppe postoperativ auch Doppelmessungen zur Bestimmung der HES-Konzentration und der intravasalen HES-Menge durchgeführt. Die Mittelwerte dieser Messergebnisse sind in **Tabelle 3.4.5** dargestellt.

Nach Operationsende belief sich die HES-Konzentration im Plasma (= cHES-3) auf $7,3 \pm 2,4$ g/l. Im Vergleich zum Messzeitpunkt vor Retransfusion (cHES-2 = rund 8,8 g/l) war die HES-Konzentration also um rund 1,5 g/l abgefallen.

Die daraus zu errechnende Menge an intravasalem HES (= IV-HES) nach Operationsende ergab im Mittel rund 25 g in der HES-Gruppe. Verglichen mit dem Messzeitpunkt vor Retransfusion zeigte sich hier eine Abnahme (= Δ IV-HES) von etwa 4 g HES (siehe **Tabelle 3.4.5**). Eine ausführliche HES-Gesamtbilanz ist in Kapitel 3.7 beschrieben.

Tabelle 3.4.5

	HES-Gruppe n = 10
cHES-3 nach Operationsende [g/l]	$7,3 \pm 2,4$ (3,7 – 11,8)
IV-HES nach Operationsende [g]	$25,4 \pm 8,0$ (14,9 – 42,5)
Δ IV-HES [g]	$-3,6 \pm 4,2$ (-10,9 – 0,9)

Tabelle 3.4.5: cHES-3 = HES-Konzentration im Plasma nach Operationsende; IV- HES = intravasale HES-Menge; Δ IV- HES = IV- HES nach Operationsende minus IV- HES nach ANH

3.5 Plasmabilanz

In folgenden Kapitel sollen die Ergebnisse der Plasmabilanz vom präoperativen Messzeitpunkt bis zum postoperativen Messzeitpunkt nach Retransfusion des autologen Blutes erläutert werden. Daher spielen bei Betrachtung der Plasmabilanz auch der Blutentzug im Rahmen der ANH oder die Retransfusion des entzogenen Blutes keine Rolle mehr, da dies ja bereits vor den postoperativen Abschlussmessungen erfolgte.

In **Tabelle 3.5.1** sind die Ergebnisse des Infusionsregimes über den gesamten Untersuchungszeitraum aufgeführt.

Tabelle 3.5.1

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 9)
Kristalloidinfusion [ml]	7165 ± 768 (6100 – 8500)	7333 ± 1532 (5400 – 10100)
Urin-Ausscheidung [ml]	1985 ± 727 (1200 – 3550)	1722 ± 507 (800 – 2400)
Kolloidzufuhr (A) [ml]	1906 ± 268 (1500 – 2450)	1521 ± 193 (1150 – 1800)
Erythrozytenbilanz Δ RCV (= RCV-3 minus RCV-1) [ml]	-360 ± 157 (-625 – -143)	-364 ± 145 (-593 – -132)
Hct-m [Vol. %]	20,23 ± 2,08 (16,31 – 22,35)	19,63 ± 3,01 (16,08 – 24,38)
Chirurgischer Blutverlust [ml]	1753 ± 745 (640 – 3091)	1931 ± 758 (609 – 3093)
Geschätzter Blutverlust [ml]	1280 ± 326 (500 – 1500)	1383 ± 540 (600 – 2000)
Chirurgischer PV-Verlust (B) [ml]	1403 ± 613 (497 – 2587)	1549 ± 594 (477 – 2339)
Theoretisches Δ PV (= Kolloidzufuhr minus chirurg. PV-Verlust) (C) [ml]	502 ± 533 (-448 – 1123)	-28 ± 615 (-839 – 1123)
Chirurgisches Δ PV (= PV-4 minus PV-1) (D) [ml]	606 ± 485 (-112 – 1463)	598 ± 413 (-158 – 1163)
Plasmabilanz (E) [ml]	104 ± 486	626 ± 590

Tabelle 3.5.1: Plasmabilanz der HA-Gruppe und der HES-Gruppe; Mittelwerte ± Standardabweichung sowie Streubreiten in Klammern

Die Gesamtkristalloidzufuhr in Form von isotonen Kochsalzlösungen und Vollelektrolytlösungen belief sich im Mittel in der HA-Gruppe auf 7165 ± 768 ml und in der HES-Gruppe auf 7333 ± 1532 ml. Das heißt, dass seit dem Zeitpunkt vor Retransfusion in beiden Gruppen noch etwa rund weitere 1100 ml an Kristalloiden infundiert wurden. Das mittlere Gesamturinvolumen betrug zum Zeitpunkt nach Operationsende 1985 ± 727 ml in der HA-Gruppe und 1722 ± 507 ml in der HES-Gruppe.

Bei der Kolloidzufuhr von im Mittel 1521 ± 193 ml handelte es sich in der HES-Gruppe ($n = 9$) ausschließlich um das im Rahmen der ANH als Hämodilutionsausgleich zugeführte 6 %-HES. In der HA-Gruppe hingegen hatten drei Patientinnen (Nr. 3, 5 und 18) aufgrund von Zeichen der Hypovolämie zusätzlich zum Hämodilutionsausgleich von rund 1800 ml noch jeweils 250 ml 5 % Humanalbumin erhalten, so dass in dieser Gruppe durchschnittlich 1906 ± 268 ml an Kolloid infundiert wurden. Die Kolloidzufuhr war demnach in der HA-Gruppe signifikant höher als in der HES-Gruppe ($p < 0,05$).

Der gemessene chirurgische Blutverlust lässt sich mittels der Kenntnis von Δ RCV und Hct-m (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 8) bestimmen. Im Mittel betrug er rund 1750 ml in der HA-Gruppe und 1930 ml in der HES-Gruppe. Daraus ist der gemessene chirurgische Plasmaverlust (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 9) ableitbar. In der HA-Gruppe belief er sich auf durchschnittlich rund 1400 ml, in der HES-Gruppe auf etwa 1550 ml. Setzt man voraus, dass nur die Kolloidzufuhr (= A) und der gemessene chirurgische Plasmaverlust (= B) das Plasmavolumen beeinflussen, so ergibt sich eine als theoretisches Δ PV (= C) bezeichnete Plasmavolumen-Veränderung am Ende des Beobachtungszeitraumes gegenüber dem Anfang.

Dieses theoretische Δ PV wird nach der Gleichung

$$C = A - B \text{ [ml]}$$

definiert. Es betrug in der HA-Gruppe im Mittel 502 ± 533 ml und -28 ± 615 ml in der HES-Gruppe. Die Plasmabilanz (= E) ergibt sich, in dem man nun das theoretische Δ PV in Relation mit dem tatsächlichen Veränderungen des Plasmavolumens (= D) von Anfang bis Ende des Beobachtungszeitraumes, nämlich dem sog. chirurgischen Δ PV (= PV-4 minus PV-1), setzt. Die Gleichung hierfür lautet:

$$E = D - C \text{ [ml] bzw. als Gesamtformel: } E = D - (A - B) \text{ [ml]}$$

Abbildung 3.5.1

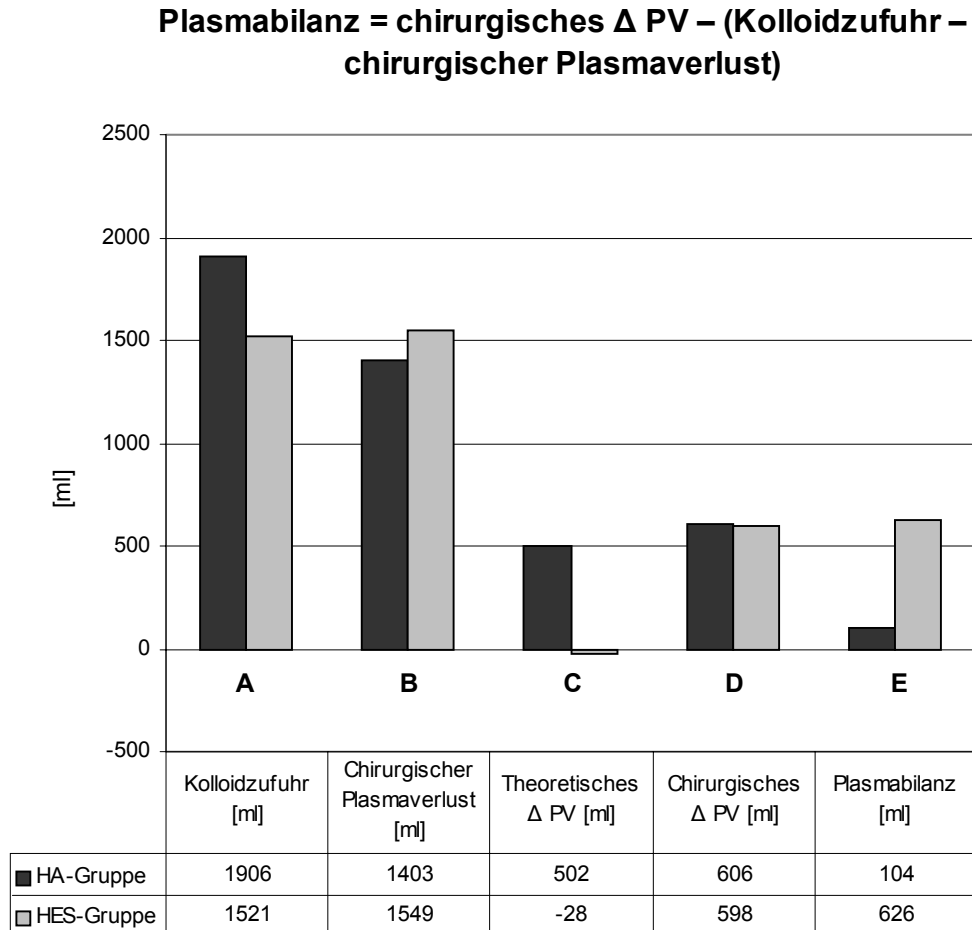


Abb. 3.5.1: Plasmabilanz der HA-Gruppe (n = 10) und der HES- Gruppe (n = 9)

Die Plasmabilanz belief sich auf durchschnittlich 104 ± 486 ml in der HA-Gruppe und auf 626 ± 590 ml in der HES-Gruppe. In **Abbildung 3.5.1** sind die Bilanzen beider Gruppen graphisch dargestellt (Werte nur als Mittelwerte ohne Standardabweichung).

In **Tabelle 3.5.1** ist außer dem gemessenen auch noch der geschätzte Blutverlust aufgeführt. Er belief sich in der HA-Gruppe auf im Mittel 1280 ± 326 ml und in der HES-Gruppe auf 1383 ± 540 ml.

Im Gegensatz zum gemessenen chirurgischen Blutverlust (rund 1750 ml in der HA-Gruppe und 1930 ml in der HES-Gruppe) differierte der Blutverlust also um rund 500 ml. In Relation zum tatsächlichen Blutverlust sind dies immerhin 40 %. Damit wurde der Blutverlust in erheblichem Ausmaß unterschätzt.

In **Abbildung 3.5.2** ist die Regressionsanalyse und der Bland Altman-Plot von gemessenem chirurgischem Blutverlust versus geschätztem Blutverlust des Gesamtkollektivs dargestellt. Der niedrige Regressionskoeffizient von rund 0,4 zeigt deutlich, dass nur eine lockere Beziehung zwischen der Höhe des geschätzten Blutverlustes und dem tatsächlichen gemessenen chirurgischen Blutverlust besteht. In welchem Ausmaß der Blutverlust in Einzelfällen unterschätzt werden kann, verdeutlichen die Patientinnen Nr. 18 (HA-Gruppe) und Nr. 20 (HES-Gruppe): Der Blutverlust war auf 750 ml (Nr. 20) bzw. auf 1500 ml (Nr. 18) geschätzt worden, betrug jedoch tatsächlich bei beiden Patientinnen rund 3100 ml. In Ausnahmefällen (eine Patientin der HA-Gruppe und zwei Patientinnen der HES-Gruppe) wurde der chirurgische Blutverlust aber auch überschätzt (siehe Bland Altman-Plot). Diese Fehleinschätzung erklärt sich damit, dass die aus dem Operationsfeld abgesaugte Flüssigkeit nur zum Teil aus Vollblut und zum Teil aus Spülflüssigkeit und Lymphe besteht.

Abbildung 3.5.2

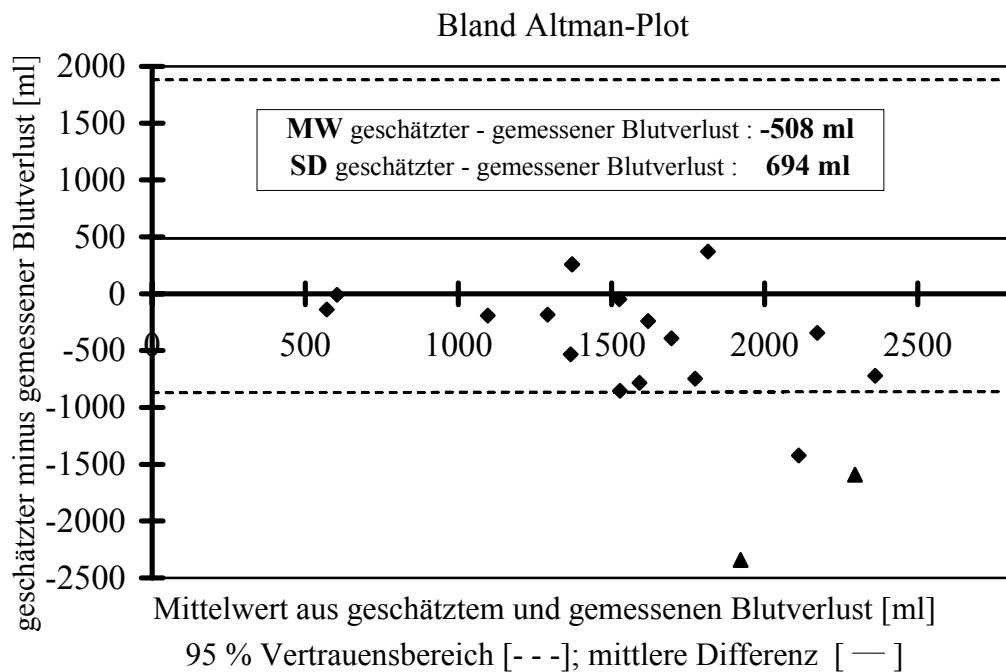
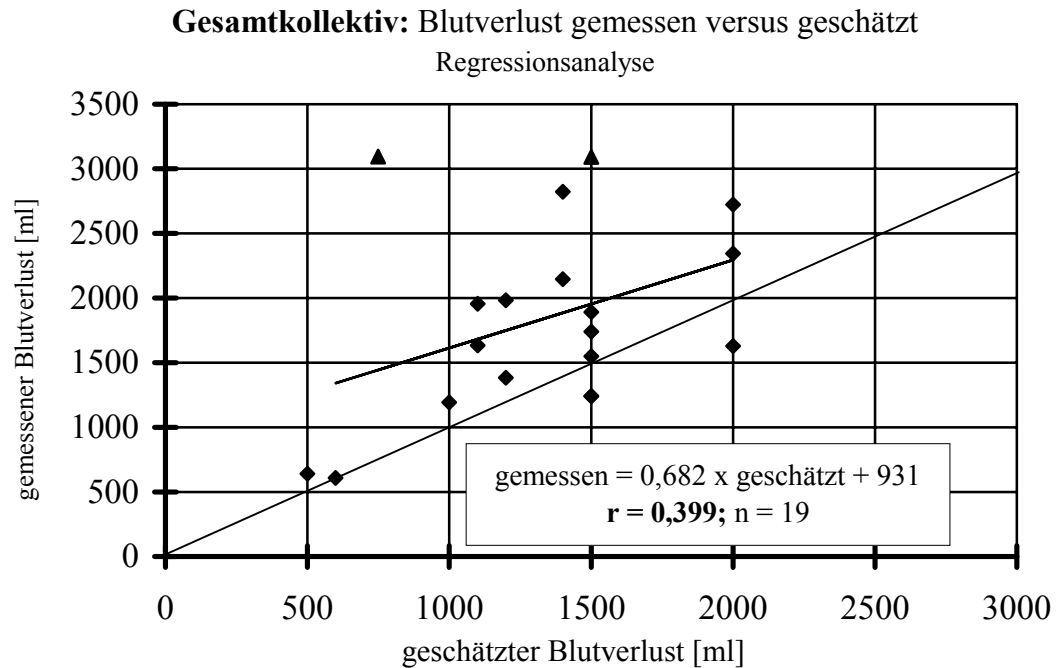


Abb. 3.5.2: Regressionsanalyse und Bland Altman-Plot von gemessenem chirurgischem Blutverlust versus geschätztem Blutverlust (die Dreiecke stehen für die Patientinnen Nr. 18 und Nr. 20)

3.6 Proteinbilanz

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Proteinbilanz dargestellt. Auch die Proteinbilanz umfasst die Messzeitpunkte vor Beginn der ANH und den postoperativen Messzeitpunkt nach Retransfusion des gesamten Blutes. In **Tabelle 3.6.1** sind die Ergebnisse der Proteinbilanz für die HA-Gruppe (n = 10) und die HES-Gruppe (n = 9) angegeben.

Tabelle 3.6.1

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 9)
Proteinzufuhr (F) [g]	94 ± 11 (75 - 123)	KEINE
Prot-m [g/l]	4,74 ± 0,34 (4,24 – 5,50)	3,27 ± 0,55 (2,74 – 4,61)
Prot-4 [g/l]	47,4 ± 4,5 (40,6 – 56,0)	35,6 ± 4,1 (28,9 – 41,5)
Gemessener Proteinverlust (G) [g]	66,8 ± 31,0 (24,6 – 120,9)	50,4 ± 20,1 (15,3 – 82,2)
IVP-4 [g]	174 ± 24 (142 - 223)	126 ± 28 (91 – 172)
Theoretisches Δ IVP (H) [g]	28,4 ± 28,9 (-33,4 – 63,5)	-50,4 ± 20,1 (-82,2 - -15,3)
Gemessenes Δ IVP (= IVP-4 minus IVP-1) (J) [g]	-12,0 ± 28,8 (-45,8 – 34,8)	-59,4 ± 20,6 (-91,9 - -33,7)
Proteinshift (K) [g]	-40,4 ± 30,3	-9,0 ± 25,9

Tabelle 3.6.1: Proteinbilanz der HA-Gruppe und der HES-Gruppe

Da als Proteinzufuhr ausschließlich 5 %-Humanalbumin verwendet wurde, ergab sich die Proteinzufuhr (= F) nach der Formel:

$$\text{Proteinzufuhr [g]} = \text{Kolloidzufuhr [ml]} \times 0,05 \text{ [g/l]}$$

und betrug im Mittel 94 ± 11 g in der HA-Gruppe. Im Gegensatz dazu wurde in der HES-Gruppe kein zusätzliches Protein infundiert.

Die mittlere Proteinkonzentration (= Prot-m) während der chirurgischen Blutung ergab sich als Mittelwert der intraoperativen Messzeitpunkte und belief sich auf $4,74 \pm 0,34$ g/l in der HA-Gruppe und $3,27 \pm 0,55$ g/l in der HES-Gruppe. Daraus lässt sich der durchschnittliche gemessene chirurgische Proteinverlust (= G) ermitteln (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.3** Formel Nr. 1a). Er betrug rund 67 g in der HA-Gruppe und rund 50 g in der HES-Gruppe. Setzt man voraus, dass die Menge an intravasalem Protein ausschließlich durch die Proteinzufuhr (= F) und den gemessenen chirurgischen Proteinverlust (= G) verändert wird, so erhält man eine als theoretisches Δ IVP (= H) bezeichnete theoretische Änderung im Δ IVP zwischen den Messzeitpunkten vor ANH und nach Operationsende. Nach der Formel

$$H = F - G \text{ [g]}$$

errechnete sich ein mittleres theoretisches Δ IVP von etwa 28 g in der HA-Gruppe und etwa -50 g in der HES-Gruppe.

Die Gesamtbilanz der intravasalen Proteinmenge (= K) wurde nun analog zur Plasmabilanz nach der Gleichung (siehe Methodikteil **2.5.3** Formel Nr. 2):

$$K = J - H \text{ [g]} \text{ bzw. als Gesamtformel: } K = J - (F - G) \text{ [g]}$$

ermittelt und betrug durchschnittlich rund -40 g in der HA-Gruppe bzw. rund -9 g in der HES-Gruppe (siehe **Tabelle 3.6.1**). Dieser Verlust von IVP in Form einer Extravasation wird als Proteinshift bezeichnet.

Abbildung 3.6.1

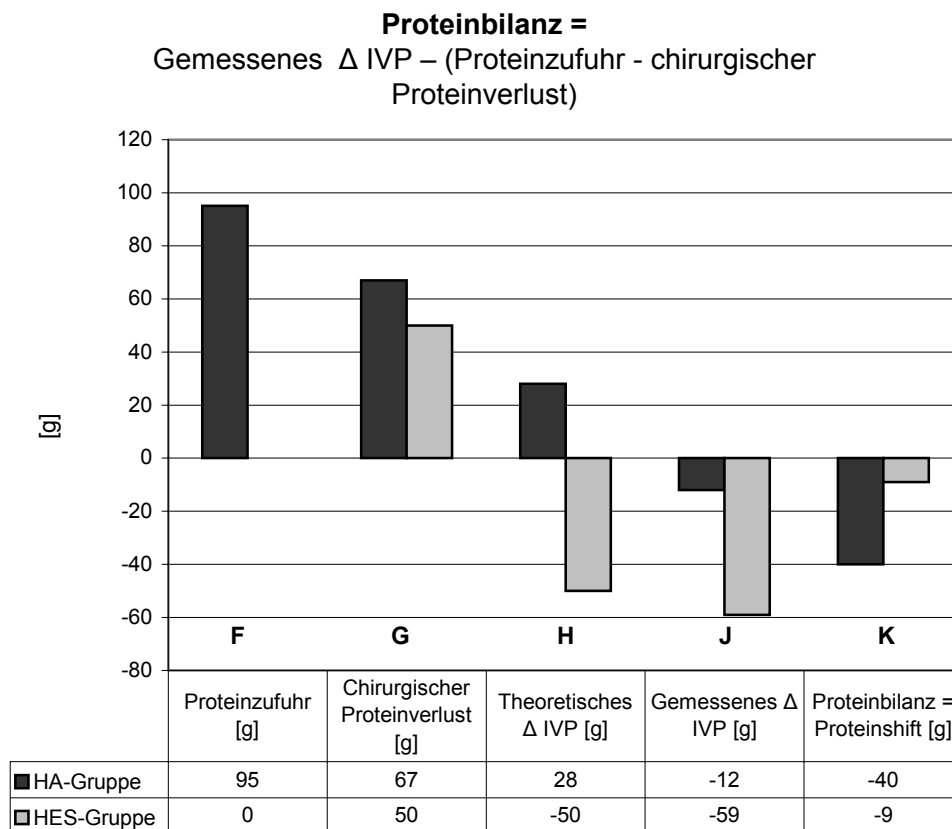


Abb. 3.6.1: Proteinbilanz der HA-Gruppe (n = 10) und der HES-Gruppe (n = 9); Werte als Mittelwerte ohne Standardabweichung

3.7 HES-Bilanz

Ähnlich wie in den vorausgehenden Bilanzen wird nun im Folgenden eine Gesamtbilanz für die intravasale HES-Menge erstellt. Sie umfasst die Messzeitpunkte nach abgeschlossener ANH und den postoperativen Messzeitpunkt. In **Tabelle 3.7.1** sind die jeweiligen Messergebnisse aufgeführt.

Tabelle 3.7.1

	HES-Gruppe n = 10
cHES-m [g/l]	11,9 ± 2,8 (6,1 – 16,4)
IV-HES nach Operationsende (L) [g]	25,4 ± 8,0 (14,9 – 42,5)
HES-Zufuhr (M) [g]	88,2 ± 14,7 (60,0 – 108,0)
Chirurgischer HES-Verlust (N) [g]	18,3 ± 8,6 (7,8 – 29,9)
HES-Konzentration im Urin [g/l]	11,7 ± 7,4 (1,2 – 21,1)
HES-Ausscheidung im Urin (P) [g]	18,0 ± 9,1 (1,8 – 31,7)
HES-Shift (Q) [g]	-30,4 ± 12,8 (12,5 – -56,6)

Tabelle 3.7.1: HES-Gesamtbilanz für die HES-Gruppe (n = 9); cHES-m = mittlere HES-Konzentration im Plasma

Postoperativ betrug die Menge an intravasalem HES (= L) im Mittel in der HES-Gruppe rund 25 g. Die HES-Gruppe hatte im Rahmen der ANH eine HES-Zufuhr von insgesamt durchschnittlich rund 88 g erhalten. Andere (proteinhaltige) Kolloide wurden dieser Gruppe nicht infundiert. In die HES-Gesamtbilanz gehen neben der HES-Zufuhr (= M) noch der chirurgische HES-Verlust (= N) und die HES-Ausscheidung im Urin (= P) mit ein. Der chirurgische HES-Verlust (Berechnung siehe Methodikteil 2.5.3 Formel Nr. 3b) betrug durchschnittlich rund 18 g. Die über die Urin-HES-Konzentration zu berechnende HES-Ausscheidung im Urin (Berechnung siehe Methodikteil 2.5.3 Formel Nr. 3d) lag ebenfalls bei durchschnittlich rund 18 g. Aus diesen Werten lässt sich nun die in **Abbildung 3.7.1** graphisch veranschaulichte HES-Gesamtbilanz (= Q), der sog. HES-Shift, nach der Gleichung

$$Q = L - M + N + P \text{ [g]}$$

aufstellen (siehe Methodikteil 2.5.3 Formel 3a).

Der HES-Shift betrug durchschnittlich $-30,4 \pm 12,8$ g (siehe **Tabelle 3.7.1**). Das bedeutet, dass etwa 30 g HES auf anderem Wege als über die chirurgische Blutung oder die Urin-Ausscheidung aus dem Gefäßbett verschwunden sind. Diese Feststellung wird in der Diskussion genauer erörtert.

Abbildung 3.7.1

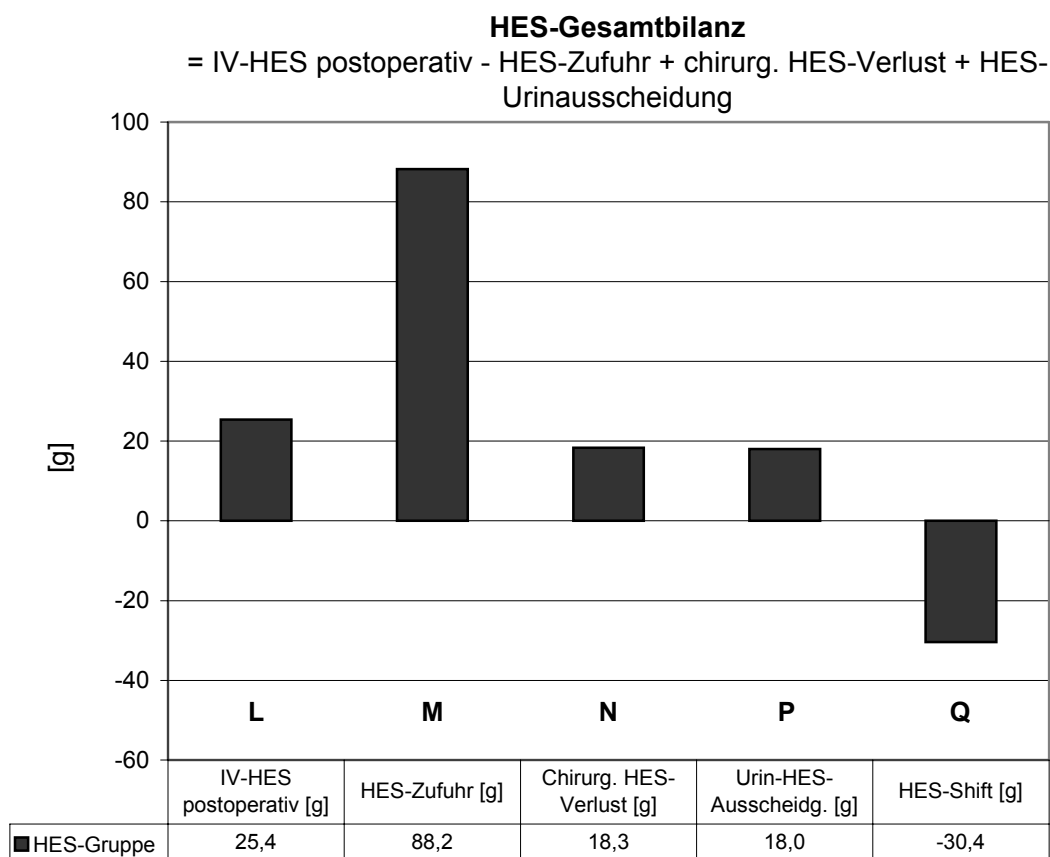


Abb. 3.7.1: Graphische Darstellung der HES-Gesamtbilanz; alle Werte sind als Mittelwerte ohne Standardabweichung angegeben

3.8 Einsparungen an Erythrozyten durch die ANH

Als Maß der Effektivität der durchgeführten ANH diente die Berechnung der durch ANH eingesparten Menge an Erythrozyten. Diese Berechnung ergab sich aus der Abschätzung eines theoretischen postoperativen Hämatokrits und eines theoretischen mittleren intraoperativen Hämatokrits ohne Durchführung einer ANH mit Hilfe der gemessenen RCV-Werte. In **Tabelle 3.8.1** sind die gemessenen und berechneten Werte dazu aufgeführt.

Mittels der Kenntnis des chirurgischen Blutverlustes, des Blutvolumens vor Beginn der chirurgischen Blutung und des Hämatokrits vor Blutungsbeginn lässt sich der theoretische postoperative Hämatokrit ($= \text{Hct-end}_t$) ohne durchgeführte ANH berechnen (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.4** Formel Nr. 1a und 1b). In der HA-Gruppe belief er sich im Mittel auf rund 24,6 Vol.% und in der HES-Gruppe auf rund 21,5 Vol.% (siehe **Tabelle 3.8.1**). Aus dem theoretischen postoperativen Hämatokrit kann man wiederum den theoretischen mittleren intraoperativen Hämatokrit ($= \text{Hct-m}_t$) ohne durchgeführte ANH ableiten (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.4** Formel Nr. 2a und 2b), der sich auf etwa 29,9 Vol.% in der HA-Gruppe und auf rund 27,4 Vol.% in der HES-Gruppe (siehe **Tabelle 3.8.1**) belief. Damit lag der Hct-m_t um knapp 10 Vol.% in der HA-Gruppe bzw. knapp 8 Vol.% in der HES-Gruppe über dem tatsächlich stattgehabten mittleren intraoperativen Hämatokrit von rund 20 Vol.% in beiden Gruppen bei durchgeführter ANH.

Um nun die tatsächlich eingesparte Menge an Erythrozyten zu erhalten, muss zunächst ein theoretischer Erythrozytenverlust ohne durchgeführte ANH ($= \text{Erythrozytenverlust}_t$) mittels Kenntnis des chirurgischen Blutverlustes und des Hct-m_t berechnet werden. Dieser theoretische Erythrozytenverlust belief sich in beiden Gruppen im Mittel auf über 500 ml (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.4** Formel Nr. 3a) und lag damit deutlich über dem tatsächlich gemessenen Erythrozytenverlust von rund 360 ml in beiden Gruppen (siehe **Tabelle 3.8.1**). Somit betrug die Einsparung an Erythrozyten ($= \Delta \text{ Erythrozytenverlust}$; Berechnung siehe Methodikteil **2.5.4** Formel Nr. 3b) in beiden Gruppen rund 150 ml mit einer Streubreite von 68 ml bis 268 ml.

Tabelle 3.8.1

	HA-Gruppe (n = 10)	HES-Gruppe (n = 9)
Hct-4 [Vol. %]	24,33 ± 2,12 (20,28 – 26,44)	23,52 ± 3,76 (18,91 – 29,44)
Hct-end _t [Vol. %]	24,60 ± 4,27 (17,45 – 31,28)	21,50 ± 4,08 (17,60 – 30,38)
Hct-m _t [Vol. %]	29,94 ± 2,95 (25,71 – 33,88)	27,35 ± 2,68 (23,66 – 32,79)
Hct-m [Vol. %]	20,23 ± 2,08 (16,31 – 22,35)	19,63 ± 3,01 (16,08 – 24,38)
Δ Hct-m [Vol. %]	9,75 ± 2,81 (3,78 – 12,64)	7,72 ± 2,42 (3,29 – 11,10)
Erythrozytenverlust _t [ml]	510 ± 179 (217 – 841)	520 ± 203 (200 – 856)
gemessener Erythrozytenver- lust [ml]	360 ± 157 (143 – 625)	364 ± 145 (132 – 593)
Δ Erythrozytenverlust	150 ± 44 (74 – 240)	157 ± 70 (68 – 268)

Tabelle 3.8.1: Hct-4 = Hämatokrit nach Operationsende; Hct-end_t = theoretischer postoperativer Hämatokrit ohne durchgeführte ANH; Hct-m_t = theoretischer mittlerer intraoperativer Hämatokrit ohne durchgeführte ANH; Hct-m = gemessener intraoperativer Hämatokrit; Δ Hct-m = Differenz aus Hct-m_t und Hct-m; Erythrozytenverlust_t = theoretischer Erythrozytenverlust ohne durchgeführte ANH; gemessener Erythrozytenverlust = RCV-3 minus RCV-1 x (-1); Δ Erythrozytenverlust = Erythrozytenverlust_t minus gemessener Erythrozytenverlust

Hauptbefunde zum Messzeitpunkt nach Operationsende:

1. Insgesamt waren in beiden Gruppen mehr als 7 Liter an Kristalloiden infundiert worden bei einem geschätzten Blutverlust von ca. 1300 ml. Der tatsächliche chirurgische Blutverlust lag bei 1753 ± 745 ml in der HA-Gruppe und 1931 ± 758 ml in der HES-Gruppe und war somit in beiden Gruppen um ca. 40 % (rund 500 ml) signifikant unterschätzt worden.

2. Das postoperative Erythrozytenvolumen betrug 986 ± 181 ml in der HA-Gruppe und 861 ± 221 ml in der HES-Gruppe. Dies entspricht einer signifikanten Abnahme von rund 360 ml in beiden Gruppen verglichen mit dem Messzeitpunkt vor ANH.
3. Das Plasmavolumen war im Vergleich zur Messung vor ANH in beiden Gruppen signifikant um etwa 600 ml angestiegen und betrug in der HA-Gruppe im Mittel 3673 ± 319 ml und in der HES-Gruppe 3510 ± 546 ml. Die Plasmabilanz belief sich auf 104 ± 486 ml in der HA-Gruppe und auf 626 ± 590 ml in der HES-Gruppe.
4. Das Blutvolumen war in der HA-Gruppe um etwa 200 ml auf 106 % vom Ausgangswert angestiegen und betrug 4659 ± 432 ml. In der HES-Gruppe belief sich das Blutvolumen mit 4371 ± 692 ml auf 107 % entsprechend einer Zunahme von ca. 300 ml.
5. Der durchschnittliche Hämatokrit hatte sich signifikant verringert bezogen auf die Messung vor ANH und lag in der HA-Gruppe bei $24,3 \pm 2,1$ Vol.% und in der HES-Gruppe bei $23,5 \pm 3,8$ Vol.%.
6. Das postoperative IVP hatte in beiden Gruppen im Vergleich zum Messzeitpunkt vor ANH statistisch signifikant abgenommen und betrug in der HA-Gruppe 174 ± 24 g und in der HES-Gruppe 126 ± 28 g, wobei sich die Gruppen untereinander signifikant unterschieden. Die Proteinbilanz ergab in der HA-Gruppe ein Defizit von 39 g Protein. In der HES-Gruppe belief sich das Defizit auf nur ca. 5 g, jedoch zeigte sich hier zusätzlich ein deutliches HES-Defizit von 30 g.
7. Als theoretischer intraoperativer Hämatokrit-Mittelwert ohne ANH berechneten wir 29,9 Vol.% in der HA-Gruppe und 27,4 Vol.% in der HES-Gruppe. Dies entspräche einem theoretischen postoperativen Hämatokrit von 20,9 Vol.% in der HA-Gruppe bzw. 18,7 Vol.% in der HES-Gruppe. Daraus errechnete sich eine Einsparung von rund 150 ml ($68 - 268$ ml) Erythrozyten durch ANH.
8. Keine Patientin hatte intraoperativ Fremdblut erhalten. Drei Patientinnen bekamen am ersten postoperativen Tag 1 - 2 Erythrozytenkonzentrate auf unserer Intensivstation.

4 DISKUSSION

4.1 Effektivität der ANH

Die akute normovoläme Hämodilution bietet, wie in der Einleitung erwähnt, eine Reihe von Vorteilen gegenüber anderen Methoden der Fremdbluteinsparung. Entscheidend für den breiteren Einsatz der ANH ist jedoch der Beweis ihrer Effektivität, d.h. dass unter Anwendung der ANH nachweislich Erythrozyten eingespart werden können. Betrachtet man das Prinzip der ANH, so erscheint die Methode offensichtlich effizient: Mittels normovolämer Hämodilution erzielt man eine Verdünnung der korpuskulären Blutbestandteile, so dass es im Rahmen der chirurgischen Blutung zu einem geringeren Verlust an Erythrozyten kommt.

Trotz Befürwortung der ANH als Erythrozyten sparende Maßnahme durch diverse Organisationen (Napier et al. 1997, American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy 1996, National Heart, Lung and Blood Institute Expert Panel on the use of Autologous Blood 1995) und Transfusions-Spezialisten (Stehling und Zauder 1994, Goodnough et al. 1999), wird ihr Einsatz kontrovers diskutiert bezüglich ihrer noch nicht ausreichend geklärten Effektivität und Sicherheit. Dabei wird häufig nicht die ANH-Effektivität an sich angezweifelt, sondern in erster Linie die Tatsache kritisiert, dass es an handfesten Daten und Empfehlungen zur effizientesten Durchführung der ANH mangelt oder die Studien in ihren Aussagen stark variieren.

Feldman et al. kritisieren insbesondere, dass meist eine zu geringgradige Hämodilution durchgeführt wird und daher die Einsparungen an Erythrozyten spärlicher ausfallen als theoretisch möglich (Feldman et al. 1995). Die Effektivität der ANH bezüglich der Fremdbluteinsparung hängt nämlich neben der Höhe des präoperativen Erythrozytenvolumens im Wesentlichen vom Hämatokrit nach Durchführung der ANH (also der Höhe des Blutentzuges) und letztlich der Höhe des intraoperativen Blutverlustes, die natürlich nicht vorhersehbar ist, ab. Besonders hohe Einsparungen an Erythrozyten sind somit zu erwarten, wenn das Ausgangs-Erythrozytenvolumen hoch ist, also ein hoher präoperativer Hämatokrit vorliegt (Brecher und Rosenfeld 1994,

Weiskopf 1995). Das heißt aber auch, dass ANH umso effektiver ausfällt, je niedriger der Zielhämatokrit gewählt wird (Brecher und Rosenfeld 1994, Weiskopf 1995). So ist es nicht verwunderlich, dass in Studien, in welchen eine „low-volume-ANH“ mit einem Blutentzug von nur 5 - 8 ml/kg Körpergewicht durchgeführt wird, die Effektivität der ANH angezweifelt wird (Casati et al. 2002). Mathematischen Berechnungen zufolge steigt der Effekt der Fremdbluteinsparung bei größeren Blutverlusten (Weiskopf 2001, Brecher und Rosenfeld 1994, Weiskopf 1995). Der Blutverlust sollte daher in einem bestimmten Bereich zwischen 70 und 90 % des Ausgangsblutvolumens (Weiskopf 1995) liegen. Eine detailliertere Analyse kommt dabei zu dem Ergebnis, dass ANH nur effektiv ist, also die Einsparung von mindestens einem Erythrozytenkonzentrat ermöglicht, wenn der chirurgische Blutverlust über ca. 70 % des Blutvolumens liegt (Weiskopf 2001).

In einer Meta-Analyse unter Einbeziehung von 24 kontrollierten randomisierten Studien zur Effektivität der ANH als fremdblutsparende Maßnahme kamen die Autoren zu keinem schlüssigen Ergebnis (Bryson et al. 1998). Ursächlich dafür ist, dass in den publizierten Studien bestimmte Kriterien, wie z.B. ein relativ homogenes Patientenkollektiv mit etwa vergleichbarem chirurgischem Blutverlust, der im als effizient eingestuftem Bereich zwischen 70 – 90 % des Ausgangsblutvolumens liegt, sowie ein ausreichend hoher Hämatokrit vor und ein ausreichend niedriger Zielhämatokrit nach ANH, nicht erfüllt werden (Weiskopf 2002). In einer neueren Studie zu ANH bei jeweils 39 Patienten nach ausgedehnten Leberresektionen wurden die genannten Kriterien weitgehend erfüllt und es konnte eine signifikant niedrigere Transfusionsrate von nur 10 % versus 36 % in der Kontrollgruppe ohne ANH nachgewiesen werden (Matot et al. 2002). Dabei war der präoperative Hämatokrit von 41 Vol.% auf 28 Vol.% durch einen Blutentzug von rund 2000 ml im Rahmen der ANH gesenkt worden, wobei sich der chirurgische Blutverlust nur auf etwa 1500 ml belief. Dies stützt die Aussage, dass die Effektivität der ANH nicht ausschließlich von der Höhe des chirurgischen Blutverlustes, sondern auch vor allem von einem ausreichend hohen Blutentzug bei ausreichend hohem präoperativen Hämatokrit abhängt. Die von Weiskopf postulierte These, dass ein Erythrozytenkonzentrat erst bei einem Blutverlust von mindestens 70 % des Ausgangsblutvolumens eingespart werden kann (Weiskopf 2001), konnte durch unsere Studie

widerlegt werden: Bei einem chirurgischem Blutverlust von nur 1753 ml (HA-Gruppe) bzw. 1931 ml (HES-Gruppe) entsprechend 39,7 % bzw. 47,2 % des Ausgangs-BV (4412 ml bzw. 4093 ml) gelang es uns, in beiden Gruppen rund ein Erythrozytenkonzentrat einzusparen. Des Weiteren konnten Matot et al. nachweisen, dass mittels ANH bei extrem hohen chirurgischem Blutverlust von über 90 % des Ausgangsblutvolumens zwar nicht die Anzahl der Patienten, die eine Fremdbluttransfusion benötigten, gesenkt werden konnte, jedoch die Anzahl der zu transfundierenden Erythrozytenkonzentrate geringer ausfiel (Matot et al. 2002). Der Einsatz der ANH dient also nachweislich den Bestrebungen, Fremdbluttransfusionen zu reduzieren.

Unabhängig vom Einsatz und der Effektivität der fremdblutsparenden Methode wurde in den vergangenen Jahren der entscheidende Schritt zur Senkung der Transfusionshäufigkeit getan: Ganz entscheidend waren nämlich die Bemühungen um eine Reduktion des Transfusionstriggers. In den meisten Veröffentlichungen wird nicht ein einziger Transfusionstrigger, sondern vielmehr ein restriktiveres Transfusionsregime abhängig von den individuellen Risiken einer unzureichenden Gewebeoxygenierung eines Patienten empfohlen (Blomqvist und Sondell 2003). Dem Zeitgeist entspricht Hardys Forderung “The quest for a universal transfusion trigger, the holy grail of transfusion medicine, must be abandoned.” (Hardy 2003). Es erfolgte eine Eingrenzung, indem eine Fremdbluttransfusion bei einem Hämoglobinwert von 100 g/l als nicht indiziert eingestuft wurde, obwohl dieser Wert davor über Jahre als klassische Transfusionsschwelle betrachtet worden war (Hardy 2003, Blajchman und Hebert 2001). Offizielle Richtlinien und Empfehlungen des National Institute of Health oder der American Society of Anesthesiologists setzten den Transfusionstrigger sogar auf 70 g/l (Consensus Development Conference 1988) bzw. 60 g/l (Practice Guidelines for blood component therapy 1996) herab, da sich gezeigt hatte, dass ein restriktiveres Transfusionsregime keine negativen Auswirkungen auf das klinische Outcome hat (Blajchman und Hebert 2001). Somit zwingt auch ein $Hb < 60 \text{ g/l}$ nicht unbedingt zur Transfusion, solange der Patient hämodynamisch stabil ist und keine Zeichen von unzureichender Sauerstoffversorgung des Gewebes wie Tachykardie, Hypotension, O_2 -Extraktion $> 50 \%$, gemischt-venösem $pO_2 < 4.3 \text{ kPa}$ (32 mmHg) und Zeichen lokaler Oxygenierungs-Defizite wie Myokard-Ischämie bietet (Spahn 2000). Wenn bereits an

wachen, aber ruhenden, kardial gesunden Probanden eine ANH bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 50 g/l nachweislich ohne Zeichen einer inadäquaten Gewebeoxygenierung durchgeführt werden konnte (Weiskopf et al. 1998), so kann man davon ausgehen, dass derartige Hämoglobinwerte in tiefer, stabiler Narkose bei kardial gesunden Patienten als durchaus sicher angesehen werden können. Eine Narkose senkt an sich schon den Sauerstoffverbrauch (Treschan et al. 2003, Viale et al. 1990, Brismar et al. 1982) und kann zusätzlich mit hyperoxischer Ventilation, die ihrerseits die Gewebeoxygenierung verbessert (Kemming et al. 2003, Habler et al. 1998), kombiniert werden. Postoperativ nimmt jedoch der Sauerstoffverbrauch wieder deutlich zu: Bedingt durch den ansteigenden Metabolismus oder das Kältezittern kann nun ein sehr niedriger Transfusionstrigger nicht mehr so leicht toleriert werden. Folglich sollte die postoperative Hämoglobinkonzentration wieder ausreichend hoch sein. Man kann daher vom „Prinzip der zwei Transfusionstrigger“ sprechen, indem man empfehlenswerterweise einen niedrigen intraoperativen Trigger-Hb während stabiler Hämodynamik in tiefer Narkose mit hyperoxischer Beatmung und einen höheren Transfusionstrigger bei höherem Sauerstoffverbrauch und normoxischer Ventilation in der postoperativen Phase anstrebt (Rehm et al. 2000¹). Genau dieses Prinzip wird durch die ANH hervorragend umgesetzt, indem intraoperativ ein sehr niedriger Hämatokrit herbeigeführt und akzeptiert wird, der wiederum postoperativ durch die Retransfusion des ANH-Blutes angehoben wird. Allein aus diesem Grund und ganz abgesehen von ihrer tatsächlichen Effektivität ermöglicht die ANH einen sehr ökonomischen Umgang mit den präoperativen Erythrozyten-Ressourcen der Patienten (Rehm et al. 2000¹).

Bei ANH wird intraoperativ zwar ein geringer, aber kein minimaler Hämatokrit (15 Vol.% – 20 Vol.%) angestrebt, um genügend Spielraum z.B. bei einem plötzlichen unerwarteten Blutverlust zu haben. Dennoch herrscht Unsicherheit in Bezug auf die akute nennenswerte Verringerung des zirkulierenden Erythrozytenvolumens während ANH. Dabei verdeutlicht folgendes Zitat von Vanderlinde die Bedenken der ANH-Kritiker: „No large studies have investigated morbidity or mortality that may occur with acute anemia, so the general belief that haemodilution is safe is largely anecdotal at this time“ (Vanderlinde et al. 2002). Angesichts möglicher Risiken der ANH scheint noch keine abschließende Entscheidung bezüglich des Verhältnisses Risiken zu tatsächlichem

Nutzen getroffen worden zu sein (Weiskopf 2002). Als potentielle ANH-Risiken gelten insbesondere eine inadäquate Gewebeoxygenierung bei zu niedrigem Hämatokrit (vor allem des Myokards), sowie die Gefahr eines noch höheren Blutverlustes z.B. durch die Abnahme der Blut-Viskosität oder die Verringerung der Blutgerinnungsfaktoren-Konzentration, die zum einen durch die Applikation des Kolloids verdünnt und zum anderen durch den Blutentzug im Rahmen der ANH mitentzogen wurden (Weiskopf 2002).

Doch selbst massive Blutverluste mit extremer Hämodilution können ohne Zeichen inadäquater Sauerstoffversorgung des Gewebes überlebt werden, wie Zollinger in einem Fallbericht beschreibt, in dem ein Patient durch eine plötzliche Massenblutung eine minimale Hämoglobinkonzentration von nur 11 g/l aufwies, vorausgesetzt Normovolämie kann aufrecht erhalten werden (Zollinger et al. 1997).

Durch die Verwendung der Double-Label-Methode, also der Messung des Erythrozytenvolumens und des Plasmavolumens, konnten wir in unserer Studie nachweisen, dass während ANH Normovolämie aufrecht erhalten wurde. Die Messmethode weist eine hohe Präzision (Rehm et al. 1998², Orth et al. 1998) und Validität (Rehm et al. 1998², Schad et al. 1987, Lauermann et al. 1994) auf und erfüllt somit die Bedingungen für den klinischen Einsatz. Unter diesen Voraussetzungen dürfen therapeutische Konsequenzen aus den in der perioperativen Phase mittels Doppelmarkierungs-Messmethode gewonnenen Informationen über Flüssigkeits- oder Blutverluste oder Effekte einer Infusionstherapie gezogen werden. Die rasche Wiederholbarkeit der Double-Label-Messungen (PV-Messung innerhalb von ca. 20 Minuten und RCV-Messung etwa innerhalb einer Stunde) ermöglicht intra- und postoperative Verlaufskontrollen. So können perioperative Verluste an Erythrozyten, Flüssigkeit und Protein, wie sie im Rahmen großer abdominalchirurgischer Eingriffe häufig entstehen, exakt quantifiziert werden, noch bevor gängige Überwachungsparameter wie arterieller Blutdruck, Herzfrequenz und ZVD einen Hinweis auf Hypovolämie geben (Rehm et al. 1998¹).

Die Forderung nach einem optimalen Transfusionsregime mittels verlässlicher Überwachungsstrategien (Hardy 2003) wird also mit der Double-Label-Messmethodik

erfüllt, indem durch den wiederholbaren Einblick in den Volumenstatus eines Patienten eine gezielte und individuelle Steuerung der perioperativen Volumen- bzw. Transfusionstherapie ermöglicht wird. Sogar ein Blutverlust von fast 90 % des Ausgangsblutvolumens konnte in einem präzise dargelegten Fallbericht mittels Double-Label-Messung (unter Verwendung der ANH und eines Cellsavers) gänzlich ohne Fremdbluttransfusion therapiert werden (Rehm et al. 2001³). Dass auch abgesehen von Einzelfällen mit dieser Messmethodik die Transfusionshäufigkeit erheblich gesenkt werden kann, zeigt unter anderem die bis dato niedrigste beschriebene Transfusionsrate nach Wertheimscher Operation (Orth et al. 2000) auf.

4.2 Darstellung des Volumenstatus dreier Einzelfälle unserer Studie

Wichtige Erkenntnisse zum Volumenstatus eines Patienten sind nicht nur intraoperativ, sondern auch bereits präoperativ wichtig. Besonders deutlich wird dies, wenn man die Variabilität des Blutvolumens einzelner Patientinnen des untersuchten Kollektivs betrachtet. Insgesamt kann durch die Anwendung von Normwerten das präoperative Blutvolumen im Mittel recht gut eingeschätzt werden, jedoch verdeutlicht die in **Abbildung 4.1** dargestellte Regressionsanalyse und der dazugehörige Bland Altman-Plot, dass hauptsächlich deutliche Unter-, im Einzelfall jedoch auch Überschätzungen des Blutvolumens auftraten. Aus der **Abbildung 4.1** ist ersichtlich, dass im Einzelfall (in der Abbildung mit Kreis markiert) sogar das Blutvolumen um bis zu 1173 ml unterschätzt wurde. Insgesamt streute das tatsächliche präoperative Blutvolumen der Patientinnen um knapp 800 ml (95 % Vertrauensbereich) um die nach Pearson und Haller berechneten Normwerte (Pearson et al. 1995, Haller et al. 1997), wobei ein geringer Trend hin zu Überschätzung kleiner BV- und Unterschätzung großer BV-Werte (siehe Trendlinie) zu verzeichnen war. Die Patientinnen hatten zum Messzeitpunkt keine Infusionslösungen bis auf minimale Mengen an Kochsalzlösung zur Verabreichung der intravenösen Anästhetika erhalten und es gab klinisch keinen Anhalt für das Vorliegen eines Volumenmangels.

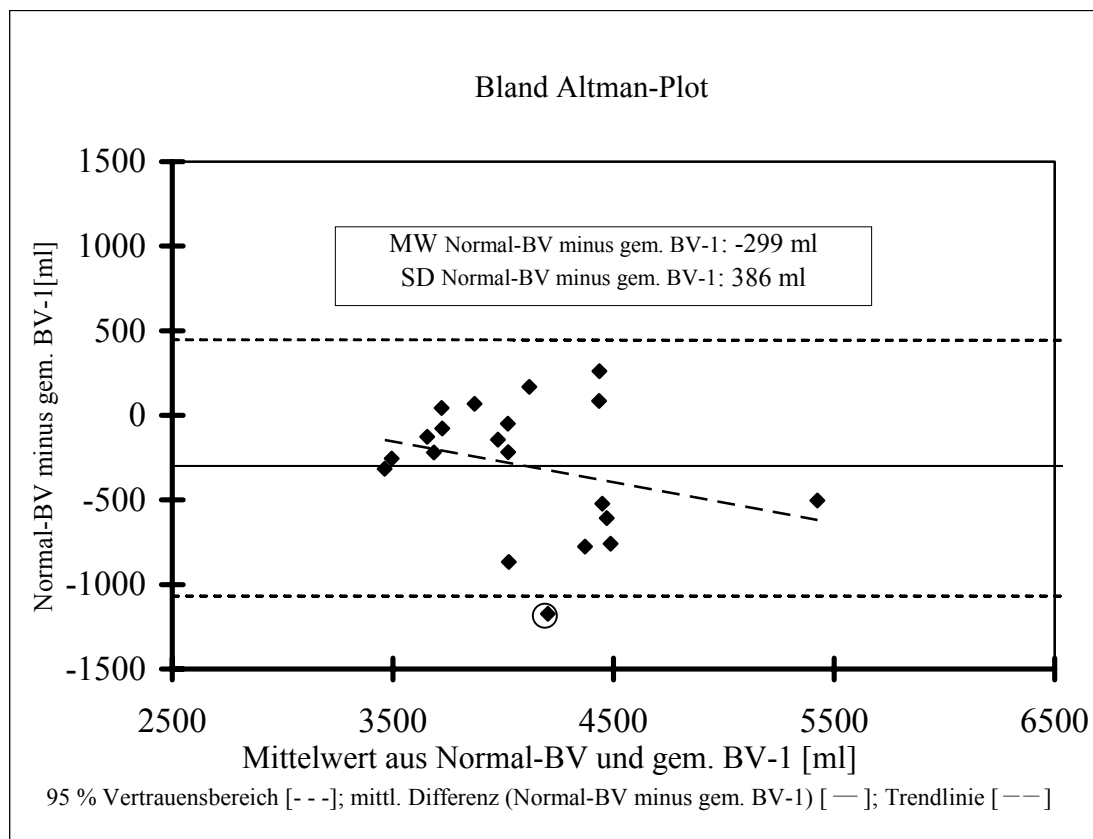
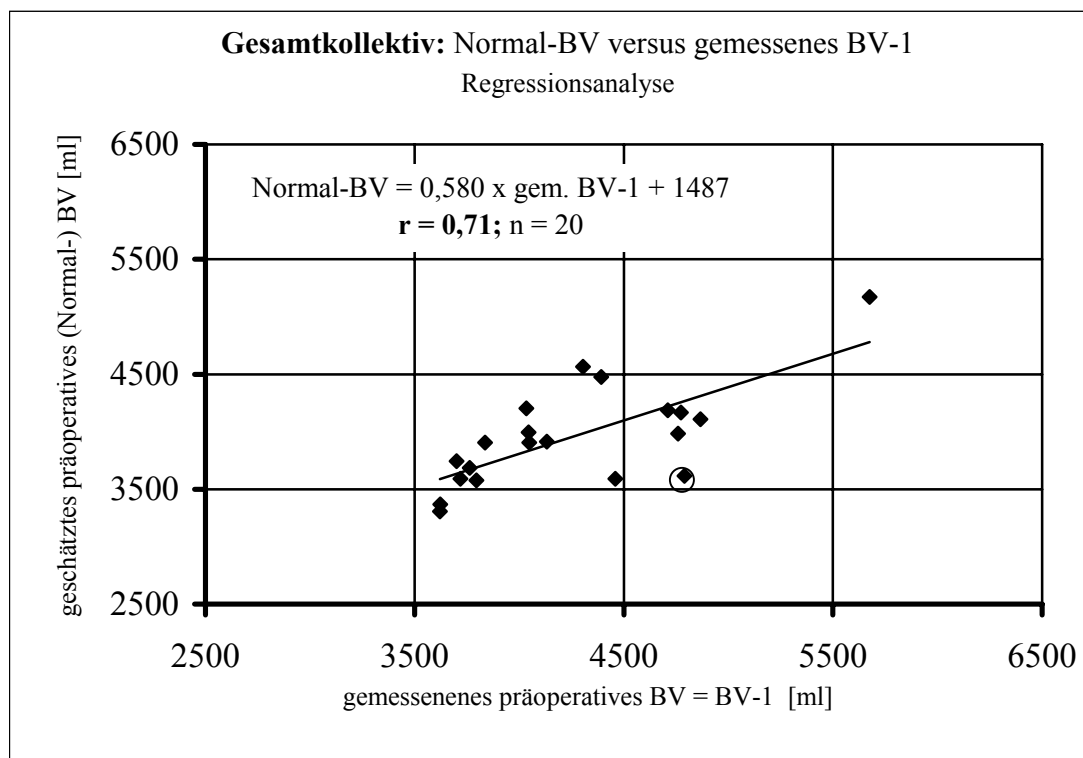


Abb. 4.1: Vergleich des geschätzten Normal-BV mit dem gemessenen BV-1 vor Operation im Gesamtkollektiv; Regressionsanalyse und Bland Altman-Plot

Eine weitere gewonnene Erkenntnis, nämlich dass es zu großen Fehleinschätzungen kommen kann, wenn man vom Hämatokrit-Wert auf die Größe des Erythrozytenvolumens schließt, haben wir bereits im Ergebnisteil anhand der Regressionsanalyse von RCV-3 versus Hct-4 zum Zeitpunkt nach Operationsende (siehe Ergebnisteil **Abb. 3.4.1**) dargestellt. Zum gleichen Schluss kamen auch Orth et al. mittels Double-Label-Messung (Orth et al. 1998): Dabei zeigte sich, dass der präoperative Hämatokrit, der am Tag vor der Operation gemessen wurde, einen sehr ungenauen Parameter für die Einschätzung des präoperativen Erythrozytenvolumens darstellte, obwohl keinerlei „Beeinflussung“ des Blutvolumens z.B. durch eine nennenswerte Flüssigkeitsrestriktion (> 8 Std.), eine Infusionstherapie oder eine präoperative Darmspülung stattgefunden hatte. Erschwerend kommt hinzu, dass wir insbesondere bei Patientinnen vor Wertheim-Operation eine auffällige präoperative Blutvolumen-Konstellation bereits in mehreren Studien unserer Forschungsgruppe durch Anwendung der Double-Label-Messung (Rehm et al. 2001¹, Rehm et al. 2001², Rehm et al. 2000¹) nachweisen konnten: Dabei wurde stets ein nur leicht unter dem Normwert gelegenes Erythrozytenvolumen kombiniert mit einem deutlich erhöhten Plasmavolumen und somit erniedrigtem Hämatokrit gemessen. Ob genau diese Konstellation, die für Zervixkarzinom-Patientinnen daher schon fast als „typisch“ bezeichnet werden darf, ursächlich mit der Grunderkrankung zusammenhängt ist noch unklar. Eventuell können jedoch für die Verminderung des präoperativen Erythrozytenvolumens z.B. eine Tumoranämie, okkulte tumorbedingte Blutungen oder Eisendefizite verantwortlich gemacht werden.

Im Folgenden sollen nun die Messwerte dreier Patientinnen unserer Studie etwas genauer betrachtet werden, wobei eine Patientin aus der HA-Gruppe (Nr. 16) und zwei Patientinnen aus der HES-Gruppe (Nr. 11 und Nr. 13) stammten. Alle drei hatten einen Ausgangs-Hämatokrit Hct-1 von unter 33 Vol.% (28 Vol.% - 31 Vol.%; siehe **Tabelle 4.1**). Für die ANH-Effektivität stellt jedoch eine präoperative Anämie eine relevante Einschränkung dar, so dass bislang die Durchführung einer ANH erst ab einem Hämatokrit über 33 Vol.% empfohlen wurde (Napier et al. 1997, Stehling und Zauder 1991; Kreimeier und Messmer 1996).

Bei der Messung des präoperativen RCV mittels Fluorescein-Markierung stellte sich heraus, dass bei diesen Patientinnen erniedrigte Ausgangs-Erythrozytenvolumina

vorlagen. Bei den drei Patientinnen belief sich das RCV-Defizit auf im Mittel 18 % (9 % - 27 %), entsprechend einem Defizit von 75 ml/m² (Patientin Nr. 16) bzw. über 100 ml/m² (Patientinnen Nr. 11 und 13) des Ausgangs-RCV gegenüber dem Normwert nach Haller (Haller et al. 1997). Im Gesamtkollektiv dieser Studie war bereits ein RCV-1-Defizit von rund 15 % im Vergleich zum RCV-Normwert nach Haller (siehe Ergebnisteil **Tabellen 3.1.4a** und **3.1.4b**) aufgefallen.

Betrachtet man das Ausgangs-Plasmavolumen so zeigte sich im Gesamtkollektiv der Studie ein um ca. 20 % über dem Sollwert nach Pearson (Pearson et al. 1995) gelegenes PV-1 (siehe Ergebnisteil **Tabellen 3.1.4a** und **3.1.4b**) ohne vorangegangene Applikation einer Infusionslösung oder Darmspülung. Im Gegensatz zum Gesamtkollektiv wiesen aber diese drei Patientinnen ein zum Teil um mehr als 50 % (43 % bis 58 %) erhöhtes PV-1 auf. Dieses außerordentlich hohe PV-1 wurde jedoch durch die Double-Label-Messungen vor Durchführung der ANH erkannt. Somit stand als Ursache für den niedrigen Ausgangs-Hämatokrit in erster Linie ein besonders hohes PV-1 und *nicht* ein zu niedriges RCV-1 fest. Das leicht erniedrigte RCV und das sehr hohe PV-1 ergaben ein hohes präoperatives BV von 130 % der Normwerte nach Pearson und Haller (Pearson et al. 1995, Haller et al. 1997), während das Gesamtkollektiv der Studie nur ein hochnormales Ausgangs-BV von 108 % aufwies (siehe Ergebnisteil **Tabellen 3.1.4a** und **3.1.4b**).

Der Grund für diese spezielle Blutvolumen-Konstellation, insbesondere das sehr hohe Plasmavolumen, ist derzeit nicht bekannt. Jedenfalls können hormonelle Dysregulationen oder zusätzliche Infusionen als Ursache ausgeschlossen werden (Rehm et al. 2000³).

Tabelle 4.1

Patientin	Nr. 16 (HA-Gruppe)	Nr. 11 (HES-Gruppe)	Nr. 13 (HES-Gruppe)
PV-1 [ml]	3542 2197 ml/m ²	3465 2163 ml/m ²	3533 1989 ml/m ²
RCV-1 [ml]	1247 773 ml/m ²	995 621 ml/m ²	1227 691 ml/m ²
BV-1 [ml]	4790 2970 ml/m ²	4460 2784 ml/m ²	4760 2680 ml/m ²
Hct-1 [Vol.%]	31,1	28,3	30,8
ANH-Blutentzug [ml]	1650	1158	1441
Volumenrückgabe	1900 ml Albumin	1400 ml HES	1700 ml HES
PV-2 [ml]	3767	3247	3820
RCV-2 [ml]	784	735	806
BV-2 [ml]	4551	3982	4626
Hct-2 [Vol.%]	20,3	19,3	19,0
Chirurg. Blutverlust [ml]	1892	1630	1243
Kristalloidinfusion [ml]	6800	9500	6200
PV-4 [ml]	3803	3307	4695
RCV-3 [ml]	910	721	1000
BV-4 [ml]	4713	4028	5695
Hct-4 [Vol.%]	21,3	19,3	22,4
Einsparung an Erythrozyten [ml]	149	112	110
Einsparung an Erythrozyten [%]	30,7	29,0	32,6

Tabelle 4.1: Blutvolumen-Status der drei Patientinnen vor ANH, nach ANH und postoperativ;
PV = Plasmavolumen; RCV = Erythrozytenvolumen; BV = Blutvolumen; Hct = Hämatokrit

Da mittels der Double-Label-Methode erkannt wurde, dass in diesen drei Fällen ein sehr hohes PV-1 eine Anämie nur sozusagen vortäuschte, führten wir nun die ANH bis zu einem Zielhämatokrit von 22 Vol.% durch. Dabei belief sich der mittlere Blutentzug im Rahmen der ANH auf rund 1400 ml. Gleichzeitig erfolgte eine durchschnittliche Volumenrückgabe von rund 1650 ml Kolloid (HA oder HES, siehe **Tabelle 4.1**). Ohne perioperative Fremdblut-Transfusion beliefen sich die postoperativen Hämatokrit-Werte nach Rückgabe des ANH-Blutes auf rund 21 Vol.% (siehe **Tabelle 4.1**) trotz eines chirurgischen Blutverlustes von durchschnittlich rund 1600 ml, entsprechend etwa 35 % des Ausgangsblutvolumens. Das theoretische Modell zu Einsparungen an Erythrozyten (Berechnungen siehe Methodikteil **2.5.4** Formel Nr. 1 – 3) ergab im Mittel rund 124 ml eingesparte Erythrozyten, bei der Patientin Nr. 16 sogar 149 ml, was der Einsparung fast eines Erythrozytenkonzentrats entsprach. Trotz niedrigem Ausgangs-Hämatokrit konnte somit der chirurgische Erythrozyten-Verlust um rund 30 % mittels ANH gesenkt werden.

Am Beispiel dieser drei Patientinnen konnte also gezeigt werden, dass ANH auch effektiv sein kann, wenn der als Voraussetzung für Effektivität beurteilte (Brecher und Rosenfeld 1994, Weiskopf 1995) hohe Ausgangs-Hämatokrit fehlt. Voraussetzung dafür ist allerdings, dass der niedrige präoperative Hämatokrit *nicht* auf einem normalen Ausgangs-PV kombiniert mit einem erniedrigten Ausgangs-RCV beruht. In solchen Fällen kann ANH nicht effizient sein (Rehm et al. 2000³). Wird allerdings eine Anämie nur durch ein deutlich über dem Normwert gelegenes PV-1 vorgetäuscht und dies mittels Double-Label-Messung präoperativ erkannt, so kann die Planung einer ANH tatsächlich sinnvoll, d.h. mit Aussicht auf signifikante Fremdbluteinsparung sein.

4.3 Volumeneffekt

Weltweit werden Kristalloide und Kolloide in erheblichem Umfang zur Aufrechterhaltung des Blutvolumens in der perioperativen Phase eingesetzt. Um den Einfluss des jeweiligen Plasmaersatzmittels auf das zirkulierende Plasmavolumen abzuschätzen, berechnet man den Volumeneffekt nach folgender Gleichung:

$$\text{Volumeneffekt [\%]} = 1,00 + \{(\text{Blutentzug} - \text{Kolloidzufuhr} + \Delta \text{BV}) / \text{Kolloidzufuhr}\}$$

(siehe Methodikteil 2.5.1 Formel Nr. 6).

Berechnet wird also der intravasal verbleibende prozentuale Anteil eines infundierten Volumenersatzmittels bzw. Plasmaexpanders, gleichwohl ob es sich dabei um ein Kristalloid oder Kolloid handelt.

In der Vergangenheit konnten allerdings keine verlässlichen Daten zu den Volumeneffekten der verschiedenen (meist kolloidalen) Präparate erhoben werden. Dies liegt vor allem an der Messmethodik früherer Studien. Die 1987 und 1988 von Hahn beschriebene Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode (HDM) stellt die am stärksten vereinfachte Messmethodik dar: Das Blutvolumen wird als primär „normwertig“ vorausgesetzt. Es erfolgt vor und nach Infusion des Plasmaersatzmittels lediglich eine Messung des large-vessel-Hämatokrits Hct_{LV} (Hahn 1987, Hahn 1988). Die Berechnung des Volumeneffekts der Infusionslösung stützt sich also ausschließlich auf die Hct_{LV} -Veränderung. Unsere Forschungsgruppe führte unlängst Double-Label-Messungen zum Volumeneffekt von 6 %-HES während ANH durch und verglich dabei die Ergebnisse mit einem „virtuellen“, lediglich mittels Hct_{LV} -Messung errechneten Volumeneffekt. Statt, wie bei der HDM-Methode üblich, Normwerte für das Ausgangs-Blutvolumen zu verwenden, wurde als Ausgangswert das über Double-Label-Messung korrekt gemessene BV sozusagen als Zugeständnis zugrunde gelegt. Dennoch zeigte sich, dass dieser „virtuelle“ Volumeneffekt nach zweimaliger Messung um 30 % bzw. 35 % über dem tatsächlichen Volumeneffekt lag (Jacob et al. 2003).

In unserer vorliegenden Studie errechneten wir mittels Double-Label-Blutvolumenmessung in der HA-Gruppe einen Volumeneffekt für 5 %-Humanalbumin

von 85 %, in der HES-Gruppe einen Volumeneffekt von 90 % für 6 %-HES. Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit den in der Literatur veranschlagten Werten für nahezu isoonkotische Kolloide überein (Boldt 2001, Dieterich 2001). Hätte man nun den Volumeneffekt nach der durchaus auch in aktuellen Studien praktizierten HDM-Methode (Berg et al. 2002, Brauer et al. 2002, Drobin und Hahn 2002) berechnet, so würden die Volumeneffekte nach folgendem Rechenbeispiel ausfallen: Als „Zugeständnis“ setzen wir auch diesmal das tatsächlich ermittelte (Double-Label-) Ausgangs-BV von 4412 ml (HA-Gruppe) und 4093 ml (HES-Gruppe) voraus. Unter alleiniger Messung eines Hct_{LV} von 36,25 % (HA-Gruppe) bzw. 34,85 % (HES-Gruppe) kann man ein „virtuelles RCV“ von 1599 ml ($4412 \times 0,3625$) in der HA-Gruppe bzw. 1426 ml ($4093 \times 0,3485$) in der HES-Gruppe berechnen. Die während ANH entzogene Erythrozytenmenge (siehe Ergebnisteil **Tabelle 3.2.1**, Berechnung siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 4) betrug im Mittel 526 ml (HA-Gruppe) bzw. 405 ml (HES-Gruppe), dementsprechend erhält man als „virtuelles RCV nach ANH“ 1073 ml ($1599 \text{ ml} - 526 \text{ ml}$, HA-Gruppe) bzw. 1021 ml ($1426 \text{ ml} - 405 \text{ ml}$, HES-Gruppe). Nach ANH wurde ein Hct_{LV} von 22,59 % bzw. 22,06 % gemessen (siehe Ergebnisteil **Tabelle 3.2.2a** und **Tabelle 3.2.2b**), aus dem sich nun ein „virtuelles BV nach ANH“ von rund 4750 ml ($1073 \text{ ml} : 0,2259$, HA-Gruppe) bzw. 4628 ml ($1021 \text{ ml} : 0,2206$, HES-Gruppe) folgern ließe. Dieses „virtuelles BV nach ANH“ liegt aber um 374 ml (HA-Gruppe) bzw. 478 ml (HES-Gruppe) über dem tatsächlich mit Double-Label-Blutvolumenmessung gemessenen BV-2 (nach ANH, siehe Ergebnisteil **Tabelle 3.2.2a** und **Tabelle 3.2.2b**). Berechnet man nun den Volumeneffekt der beiden Kolloide mit diesem zu hohen, über HDM-Methode ermittelten und daher „virtuellen BV nach ANH“, so erhält man für 5 %-Humanalbumin einen rund 20 % zu hoch kalkulierten Volumeneffekt von 105 % und für 6 %-HES einen sogar über 30 % überschätzten Volumeneffekt von 123 % (Berechnung siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 6). Es zeigt sich also auch in dieser Studie erneut, dass eine alleinige Bestimmung des Hct_{LV} keine verlässliche Berechnung des Volumeneffektes von Plasmaersatzmitteln erlaubt. Trotz der somit nachweislich mangelhaften Aussagekraft wird die HDM-Methode noch in aktuellen Studien praktiziert (Berg et al. 2002, Brauer et al. 2002, Drobin und Hahn 2002).

Im Gegensatz dazu werden bei der Double-Label-Blutvolumenmessung, dem derzeitigen **Goldstandard** (Jacob et al. 2003) der Volumeneffekt-Erfassung von Volumenersatzmitteln, beide Kompartimente des Blutvolumens, nämlich sowohl Erythrozytenvolumen als auch Plasmavolumen gemessen. Mit dieser Methode wurden von unserer Arbeitsgruppe bereits mehrmals Daten zum Volumeneffekt diverser kolloidaler Plasmaersatzstoffe veröffentlicht (Rehm et al. 2001³, Rehm et al. 2001¹, Rehm et al. 2000¹) und durch Messung der Blutvolumina vor und nach Volumengabe Volumeneffekte exakt quantifiziert.

Häufiger jedoch erfolgt die Bestimmung der Volumeneffekte über „Single-Label-Blutvolumenmessungen“ (Christensen et al. 2001, Degrémont et al. 1995, Fischer et al. 1999, Haskell et al. 1998, McIlroy und Kharasch 2003). In unserer Studie wurde bereits im Ergebnisteil ein theoretisches Erythrozytenvolumen (EV-ICG-3) zum Zeitpunkt vor Retransfusion nur über das mittels ICG gemessene Plasmavolumen, also nach dem Single-Label-Prinzip, kalkuliert. Dies war nötig, da zum Zeitpunkt vor Retransfusion eine RCV-Messung aus arbeitstechnischen Gründen nicht möglich war. Dabei verwendeten wir einen auf 0,89 festgesetzten f-cell-Wert, auf dessen Bedeutung im Folgenden noch ausführlicher eingegangen wird. Berechnet man Volumeneffekte mittels „Single-Label-Methodik“ so wird dabei neben einer gleichzeitigen Hct_{LV}-Messung entweder das Erythrozytenvolumen oder das Plasmavolumen quantifiziert. Hieraus lässt sich wiederum ein „virtuelles“ Ausgangs-Blutvolumen kalkulieren. Über die Hct_{LV}-Veränderung nach Infusion des Plasmaersatzmittels wird dann die Veränderung des „virtuellen“ Blutvolumens berechnet. Ähnlich wie bei der HDM-Methode ist also auch hier die Hct_{LV}-Veränderung für die Volumeneffekt-Kalkulation maßgeblich. Beiden Methoden liegt somit ein Denkmodell zugrunde, das voraussetzt, dass die Hämatokrit-Veränderung in allen Gefäßabschnitten gleich ist und nur durch die intravasal verbleibende Fraktion der Infusionslösung verursacht wird. Um eine Erklärung für die Diskrepanz in der Volumeneffekt-Berechnung über die alleinige Hct_{LV}-Änderung im Gegensatz zur Double-Label-Messung zu finden und die Frage zu klären, ob die Hämatokrit-Veränderung tatsächlich in allen Gefäßabschnitten gleich ist, muss eine genauere Betrachtung der Mikrostrombahn erfolgen, da sich allem Anschein nach hier wichtige Anhaltspunkte für die Klärung dieser Fragen zu verbergen scheinen.

Die „klassische Methode“ der Hämatokrit-Messung in der Mikrostrombahn erfolgte meist über elektronenmikroskopische, also statische Aufnahmen von Gefäßen. Dabei wurde der Hämatokrit als Quotient von Anzahl und Volumina der in einem Gefäßabschnitt anwesenden Erythrozyten im Verhältnis zur anatomischen Weite eines Mikrogefäßes ermittelt (Barbee und Cokelet 1971, Klitzman und Duling 1979). Diese statische Messmethodik bestätigte wiederum die bereits in den 20er Jahren des vergangenen Jahrhunderts geäußerten Vermutungen, dass dieser mikrovaskuläre Hämatokrit erheblich unter dem makrovaskulären Hämatokrit (Hct_{LV}) liege (Fahraeus 1928). Als Ursache dafür wurde die von Fahraeus 1928 postulierte Hypothese erachtet, die besagt, dass sich Erythrozyten in Gefäßen mit einem Durchmesser von weniger als 0,3 mm schneller bewegen als in größeren Gefäßen. Dies kommt durch eine Axialmigration der Erythrozyten zustande, die dazu führt, dass die Erythrozyten zur Strömungsmitte gelenkt werden. Die Schubspannung wächst somit zur Gefäßachse hin an, was wiederum dazu führt, dass sich der zentrale Blutstrom mit höherer Geschwindigkeit bewegt als der gesamte Blutfluss (Fahraeus 1928). Wenn also der mikrovaskuläre Hämatokrit kleiner als der makrovaskuläre Hämatokrit (Hct_{LV}) ist, so erklärt das die Tatsache, dass der im Methodikteil (Kapitel 2.5.1 Formel Nr. 2) definierte Parameter f-cell üblicherweise kleiner als 1 ist. Die Bedeutung der f-cell-Fraktion, also dem Quotient aus Ganzkörperhämatokrit WBH und Großgefäßhämatokrit Hct_{LV} , wird ebenfalls schon seit dem frühen 20. Jahrhundert diskutiert (Fahraeus 1928, Smith et al. 1921; Whipple et al. 1920). Obwohl sich herausstellte, dass f-cell-Werte interindividuell durchaus sehr verschieden (Geers et al. 1984, Wright et al. 1975) waren und in größeren Studien enorme Schwankungen (zwischen 0,62 und 1,13, $n = 224$; Wright et al. 1975) aufweisen können, so hat man dennoch einen festen „Umrechnungsfaktor“ von 0,89 – 0,91 zwischen Ganzkörperhämatokrit WBH und Großgefäßhämatokrit Hct_{LV} festgelegt (International Committee for Standardization in Haematology 1980). Dabei wird vorausgesetzt, dass die f-cell-Fraktion selbst nach wiederholten Hct_{LV} -Messungen und Interventionen konstant bleibt, auch wenngleich dies keinesfalls bewiesen ist. Letztendlich beruht diese Hypothese auf einer 1953 von Chaplin et al. veröffentlichten Studie. Darin wurden 28 Messungen an 19 Probanden, unter Verwendung von Evans Blue zur Plasmavolumen-Bestimmung und radioaktivem Phosphor zur Erythrozyten-Markierung

durchgeführt, die eine Konstanz des f-cell-Faktors ($0,910 \pm 0,026$) bei einem Hct_{LV} zwischen 9 Vol.% und 82 Vol.% zeigten (Chaplin et al. 1953).

Wie bereits in kleineren Studien nach speziellen Interventionen, z.B. einer Infusionstherapie im Rahmen von Operationen, aufgezeigt wurde (Lundvall und Lindgren 1998, LaForte et al. 1994, LaForte et al. 1992, Heath et al. 1969), konnte auch unsere Forschungsgruppe einen signifikanten f-cell-Anstieg in Verbindung mit hypervolämer Hämodilution, dem so genannten „volume loading“ (VL) nachweisen (Rehm et al. 2001³). Dabei wurde präoperativ Kolloid (ca. 20 ml/kg) infundiert ohne dass ein Blutentzug stattfand. Interessant ist dabei, dass in dieser Studie unter Verwendung derselben Kolloide wie in der hier vorliegenden Studie in Verbindung mit „volume loading“ (VL) sehr viel geringere Volumeneffekte erzielt wurden. Die Berechnung der Volumeneffekte während VL erfolgte ebenfalls mittels der Double-Label-Methode und ergab Volumeneffekte um nur rund 40 % (HA: 38 ± 21 %; HES: 43 ± 26 %, Rehm et al. 2001³). Daraus lässt sich folgern, dass es ganz wesentlich für die Volumenwirksamkeit der Kolloide ist, ob mit deren Infusion ein Blutverlust bzw. Blutentzug oder aber eine reine Volumenbeladung stattfindet. Hohe Volumeneffekte sind also bei Aufrechterhaltung der Normovolämie im Rahmen der ANH zu erwarten, wohingegen reine Kolloidinfusion ohne Blutentzug nur niedrige Volumeneffekte ergibt.

Durch die Berechnungen mittels Double-Label-Methode war ein signifikanter f-cell-Anstieg während VL auffällig. Dazu kann es jedoch nach dem „klassischen Denkmodell“ nur kommen, wenn während VL der makrovaskuläre Hämatokrit stärker abfällt als der mikrovaskuläre Hämatokrit. Diesen Effekt kann man jedoch nicht ausreichend erklären, betrachtet man die Fahraeus-Hypothese und das „klassische Denkmodell“ als bewiesen, wie dies auch in aktuelleren Studien (Sun und Munn 2005, Lamkin-Kennard et al. 2004, Cai et al. 1998, Tajima et al. 1992) noch getan wird. Das „klassische Denkmodell“ setzt voraus, dass das gesamte Plasmavolumen immer im makro- und mikrovaskulären Bett zirkuliert (Klitzman und Duling 1979). Interpretiert man also durch Double-Label-Messung gewonnene Daten nach dem „klassischen Modell“, dann stellt einerseits das gemessene RCV das zirkulierende Erythrozytenvolumen dar und

andererseits repräsentiert das gemessene PV-ICG das totale und somit zirkulierende Plasmavolumen.

Dieses Denkmodell wurde jedoch schon durch die bereits erwähnten Double-Label-Messungen bei VL (Rehm et al. 2001³) sowie kürzlich durchgeführten Double-Label-Messungen zum Volumeneffekt von 6 %-HES während ANH (Jacob et al. 2003) in Frage gestellt: Wie auch im Rechenbeispiel unserer Studie zeigten sich in der Studie von Jacob et al. etwa 30 % zu hohe Volumeneffekte für 6 %-HES mittels Volumeneffektberechnung allein über die Hct-Veränderung im Gegensatz zur Kalkulation mittels Double-Label-Messung (Jacob et al. 2003). Die Ursache, weshalb die alleinige Bestimmung des Hct_{LV} zur verlässlichen Bestimmung des Volumeneffektes nicht ausreicht, liegt wohl in der kaum vorhersehbaren Veränderung des im Methodikteil definierten Parameters „f-cell“. Um eine Erklärung für die Veränderungen von f-cell zu erhalten müssen die Verteilungsräume von Indocyaningrün (ICG) und Fluorescein-Natrium (SoF) näher hinterfragt werden: Die Dynamik und Verteilung von Erythrozyten und Plasma rücken dabei ins Zentrum des Interesses.

4.4 Der „Endothelial Surface Layer“ (ESL)

Ergebnisse neuerer Studien unter Verwendung der Intravitalmikroskopie stellten das „klassische Modell“ und die Fahraeus-Hypothese infrage (Desjardins und Duling 1987, Desjardins und Duling 1990, Keller et al. 1994). Diese Studien haben gezeigt, dass ein Unterschied zwischen der anatomischen Weite kleiner Gefäße und der Weite des Raumes, in dem Erythrozyten zirkulieren, besteht. Es wurde eine Zone entdeckt, die sozusagen als „Sperrgebiet für Erythrozyten“ (Jacob et al. 2003) mit einer Dicke von 0,4 bis 1,5 μm fungiert und als „endothelial surface layer“ (ESL) bezeichnet wird (Klitzman und Duling 1979, Vink und Duling 1996, Pries et al. 1998, Pries et al. 2000). Die noch häufig mit dem älteren Begriff „Glykokalyx“ benannte Schicht beinhaltet Flüssigkeit ohne Erythrozyten, ist immobil oder bewegt sich ganz langsam und bildet ein dynamisches Equilibrium mit dem zirkulierenden Plasma (Pries et al. 2000). Daher nimmt der ESL auch nicht quantitativ, jedoch qualitativ an der Blutzirkulation teil (Jacob et al. 2003). In der Intravitalmikroskopie zeigte sich, dass der ESL erheblich dicker ist, als zunächst unter Verwendung der Elektronenmikroskopie vermutet worden war. Dies lag wohl an den Fixierungstechniken der Elektronenmikroskopie z.B. mit Glutaraldehyd, die den ESL bereits vor elektronenmikroskopischer Bildgebung erheblich zerstörten (Pries et al. 2000). Ob jedoch der ESL in allen Mikrogefäßen dieselbe beachtliche Dicke aufweist, ist noch nicht abschließend geklärt (Squire et al. 2001).

Dieses „**neue Modell**“ der Mikrozirkulation in Kapillaren impliziert also, dass man das Plasmavolumen in zwei Kompartimente unterteilen kann: Das zirkulierende Plasmavolumen (PV-circ) und das restliche nicht-zirkulierende Plasmavolumen im ESL. Dem „neuen Modell“ zufolge zirkulieren die Erythrozyten im PV-circ und der Hct in der zentralen zirkulierenden Säule der Mikrostrombahn differiert *nicht* von Hct_{LV} (Desjardins und Duling 1987, Desjardins und Duling 1990, Keller et al. 1994). Des Weiteren bleibt das ESL-Volumen vermutlich nicht konstant, wenn durch künstliche Zufuhr von Infusionslösungen Plasma ersetzt oder eine Hämodilution durchgeführt wird. Dementsprechend war aufgefallen, dass in diesem Fall ein Großteil des im ESL gebundenen Plasmas dem zirkulierenden Blutvolumen zur Verfügung gestellt werden kann. Dabei

erhöht sich das zirkulierende Blutvolumen und der ESL nimmt in seiner Dicke ab (Pries et al. 2000, Pries et al. 1992).

Betrachtet man unter den Gesichtspunkten des „neuen Modells“ nun die mit Double-Label-Messung erhobenen Daten, so ist zunächst einmal augenscheinlich, dass das gemessene RCV nur das zirkulierende Kompartiment des Intravasalraumes betrifft und den ESL ausschließt, da Fluorescein nur an Erythrozyten gebunden wird, diese jedoch im ESL nicht vorkommen. Nachdem aber das Plasmavolumen in ein zirkulierendes und ein nicht-zirkulierendes Kompartiment unterteilt werden kann, stellt sich nun die Frage, welches dieser PV-Kompartimente mittels Indocyaningrün-Messung (entsprechend PV-ICG) gemessen wird. Falls ICG während der Messung nicht den ESL passieren kann, so entspräche PV-ICG dem zirkulierenden PV-circ. Sollte sich ICG jedoch auch im ESL verteilen, so wäre PV-ICG die Summe aus zirkulierendem und nicht-zirkulierendem PV, also das Gesamt-PV. Vink und Duling zeigten, dass kleine anionische Farbstoffe (0,4 – 40 kDa) mit einer Halbwertszeit von 11 – 60 min. je nach Molekülgröße in den ESL gelangten, wohingegen kleine neutrale Farbstoffe wie z.B. Rhodamin in den ESL innerhalb nur einer Kapillarpassage gelangten und sich im ESL in einer Minute verteilten (Vink und Duling 2000). ICG ist ein anionischer Tracer (775 Da), verbindet sich aber binnen wenigen Sekunden mit Plasmaproteinen, vorallem α -Lipoproteinen oder Albumin (Landsman et al. 1976, Baker 1966), die wohl auch im ESL vorhanden zu sein scheinen (Vink und Duling 2000). ICG wurde wiederholt bei Infrarot-Fluoreszenz-Videomikroskopie an Fingerkapillaren eingesetzt (Montea et al. 1987, Brölsauer und Bollinger 1991, Bollinger et al. 1991, Zaugg-Vesti et al. 1995). In diesen Arbeiten zeigte sich, dass an der arteriellen oder venösen Seite von Fingerkapillaren gesunder Probanden der Verteilungsraum von Erythrozyten durchschnittlich nur 68 % im Vergleich zur mittels ICG bestimmten Kapillar-Weite ausmachte. ICG verteilte sich im gesamten Gefäßdurchmesser der Kapillaren (inklusive ESL) innerhalb einer Minute. Somit wurde nachgewiesen, dass bei der PV-Messung mit ICG neben dem zirkulierenden PV auch das im ESL gebundene Plasma erfasst wird. Dieser offensichtliche Abstand zwischen der Erythrozyten-Säule und der Kapillarwand ist dem ESL zuzuschreiben. Diese Ergebnisse der Intravitalmikroskopie bestärken die Annahme des

„neuen Modells“, dass PV-ICG wohl eher dem Gesamt-Plasmavolumen als dem PV-circ entspricht.

Der Hypothese des „neuen Modells“ zufolge, dass der Hämatokrit im zirkulierenden Kompartiment der Kapillaren sich nicht wesentlich vom Großgefäßhämatokrit (Hct_{LV}) unterscheidet, ist es möglich, mit Hilfe der gemessenen RCV- und Hct_{LV} -Werte das zirkulierende Plasmavolumen PV-circ zu berechnen und mit dem mittels ICG bestimmten PV (PV-ICG) zu vergleichen:

$$PV\text{-}circ = (RCV / Hct_{LV}) - RCV \text{ (siehe dazu Methodikteil Kapitel 2.5.1 Formel Nr. 1)}$$

PV-ICG repräsentiert das Gesamt-Plasmavolumen, daher errechnet sich das Volumen des ESL folgendermaßen:

$$\text{Geschätztes ESL-Volumen} = PV\text{-}ICG - PV\text{-}circ.$$

Die Säulengrafiken (**Abbildung 4.2a** und **4.2b**) zeigen für die beiden Gruppen unserer Studie deutlich die Relationen zwischen den nach dem „neuen Modell“ berechneten PV-circ, dem geschätzten ESL-Volumen und dem gemessenen PV-ICG vor und nach ANH.

PV-ICG war natürlich in beiden Gruppen deutlich größer als PV-circ. Die PV-circ-Zunahme betrug nach Hämodilution etwa 540 ml (HA-Gruppe) bzw. 650 ml (HES-Gruppe). PV-ICG stieg hingegen in beiden Gruppen nur um rund 450 ml im Rahmen der ANH. Das geschätzte ESL-Volumen betrug also vor ANH fast 700 ml in der HA-Gruppe bzw. fast 600 ml in der HES-Gruppe und nahm nach ANH um rund 100 ml (HA-Gruppe) bzw. rund 200 ml (HES-Gruppe) ab.

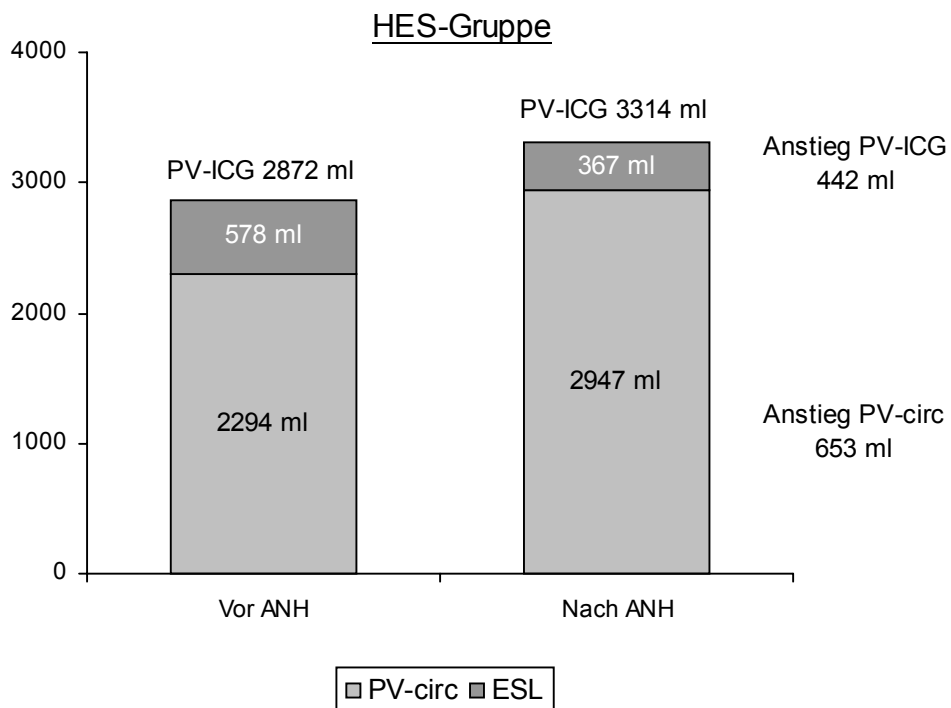
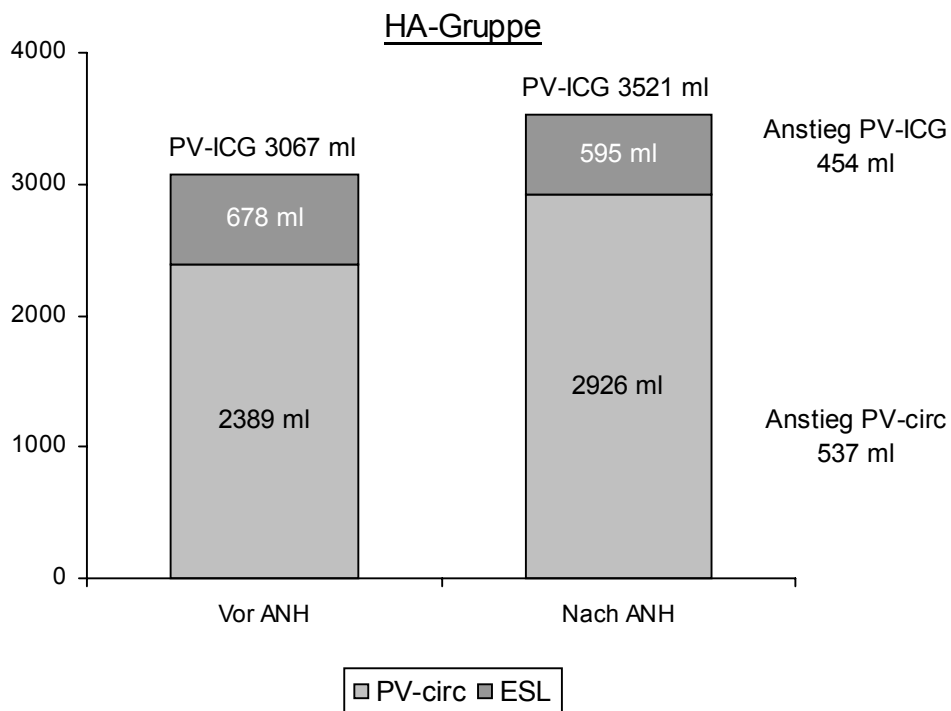


Abb. 4.2a und 4.2b: Nach dem „neuen Modell“ berechnetes PV-circ, geschätztes ESL-Volumen und gemessenes PV-ICG vor und nach ANH

Interpretiert man dieses Ergebnis nach dem „neuen Modell“, so stieg PV-circ deutlicher an als PV-ICG. Dieser größere PV-circ-Anstieg im Vergleich zum PV-ICG-Anstieg hängt vermutlich mit einer möglichen Abnahme des ESL-Volumen, einem so genannten „washout“ zusammen, wodurch auch die Abnahme des geschätzten ESL-Volumen erklärt werden kann. Das Phänomen des „ESL-washout“ wurde schon in früheren Studien beschrieben. Pries et al. konnten am Tiermodell eine im Verhältnis zur Viskositätsabnahme überproportional starke Abnahme des Gefäßwiderstandes im Rahmen einer Hämodilution nachweisen (Pries et al. 2000, Pries et al. 1998). Ursächlich dafür scheint die Abnahme des ESL-Volumen zu sein. Wenn also der ESL dem zirkulierenden Plasmavolumen Flüssigkeit zur Verfügung stellen kann, so scheint das Phänomen „Volumenänderung des ESL“ von großer klinischer Relevanz zu sein. In der hier vorliegenden Studie fiel die ESL-Änderung noch verhältnismäßig gering aus. Eine vorausgegangene und bereits erwähnte Studie unserer Forschungsgruppe berechnete mittels der Double-Label-Methode nach dem „neuen Modell“ eine ESL-Abnahme von rund 350 ml in der HA-Gruppe bzw. 450 ml in der HES-Gruppe unter Verwendung von „volume loading“ (VL) (Rehm et al. 2001³). Auffällig war dabei, dass unter Verwendung derselben Kolloide sehr viel geringere Volumeneffekte erzielt wurden und ein signifikanter f-cell-Anstieg während VL auftrat.

Die Hypothese, dass während VL der makrovaskuläre Hämatokrit stärker abfällt als der mikrovaskuläre Hämatokrit, was zu einem f-cell-Anstieg führt, kann mit dem „neuen Modell“ widerlegt werden. Der Hypothese des „neuen Modells“ zufolge unterscheidet sich nämlich der Hämatokrit im zirkulierenden Kompartiment der Kapillaren nicht wesentlich vom Großgefäßhämatokrit (Hct_{LV}). Mittels der Double-Label-Methode konnte mit dem mittleren Ganzkörperhämatokrit $WBH = RCV / (PV + RCV)$ eine Variable quantifiziert werden, die von Volumenänderungen des ESL unabhängig ist. Da sowohl das zirkulierende als auch das nicht-zirkulierende Kompartiment mit der ICG-Messung erfasst werden, wird WBH nur durch die tatsächlich intravasal verbleibende Menge einer Infusionslösung verändert. Ein signifikanter f-cell-Anstieg, wie nach VL beobachtet, spricht also für einen „zusätzlichen Volumeneffekt“ durch Mobilisation von Flüssigkeit aus dem ESL und somit Umverteilung des Plasmavolumens.

Auch im Rahmen der ANH zeigte sich selbst bei nicht signifikantem f-cell-Anstieg ein gewisser Zusammenhang zwischen der Veränderung des ESL (Delta ESL) und dem Ausmaß der f-cell- Zunahme (Delta f-cell). Durch die mathematische Verknüpfung (siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 1 und Nr. 2 sowie die Gleichungen $PV\text{-}circ = (RCV / Hct_{LV}) - RCV$ und $ESL\text{-}Volumen = PV\text{-}ICG - PV\text{-}circ$) der beiden Größen zeigt sich auch beim ANH-Kollektiv eine deutliche ESL-Abnahme bei zunehmender f-cell-Fraktion (siehe **Abbildung 4.3**).

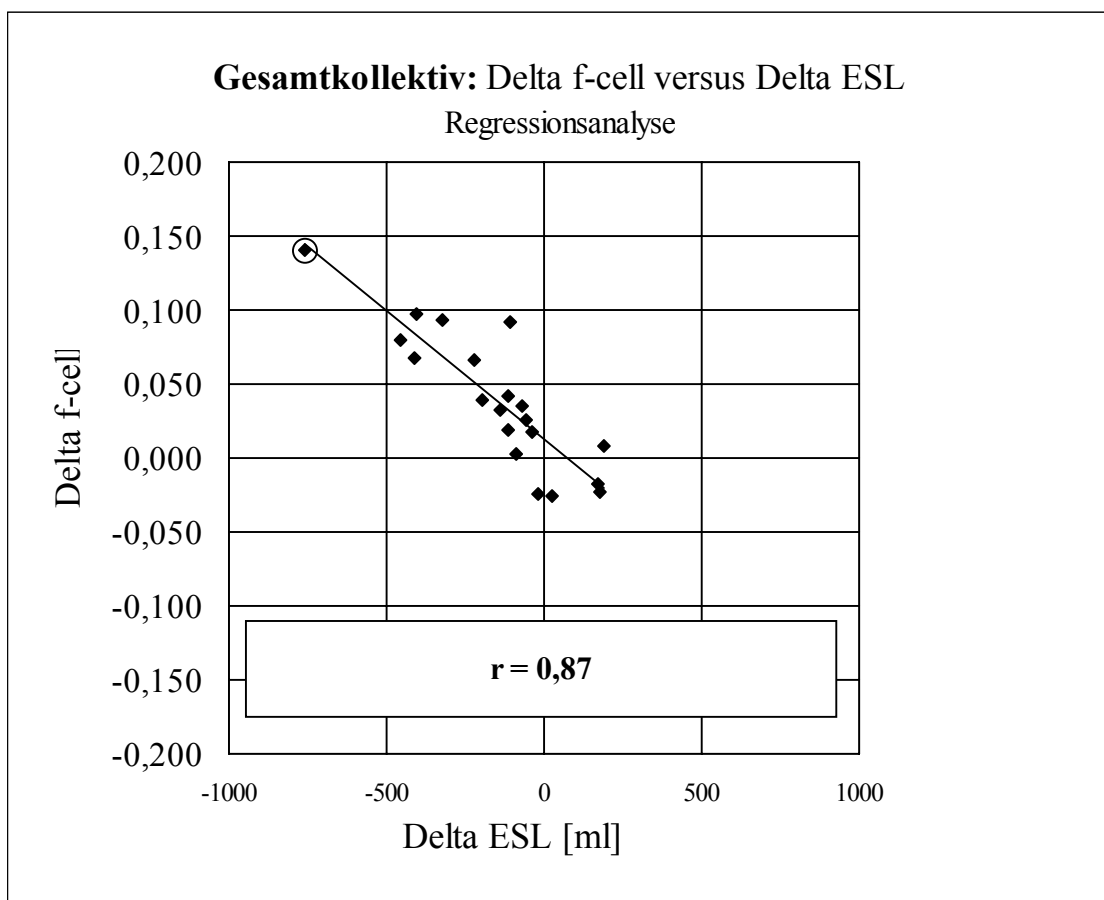


Abb. 4.3: Regressionsanalyse Delta f-cell versus Delta ESL

Aus **Abbildung 4.3** ist ersichtlich, dass insbesondere bei einer Patientin (Patientin Nr. 11 der HES-Gruppe, in der Grafik mit Kreis markiert) eine ganz erhebliche Plasma-Umverteilung aus dem ESL stattgefunden hat. Bei eben dieser Patientin kam es zum mit Abstand höchsten f-cell-Wert-Anstieg im Rahmen der ANH. Es ist zudem auffällig,

dass es sich bei der Patientin um die mit dem größten auf die Körperoberfläche bezogenen Ausgangs-Plasmavolumen, nämlich 2163 ml/m^2 , entsprechend 155 % vom Sollwert nach Pearson (Pearson et al. 1995) handelte (siehe **Tabelle 3.1.3b** und **Tabelle 4.1**). Dabei hatte die Patientin neben dem niedrigsten absoluten und relativen Erythrozytenvolumen des Gesamtkollektivs auch das höchste auf die Körperoberfläche bezogene Ausgangsblutvolumen der HES-Gruppe (2784 ml/m^2). Der f-cell-Wert stieg bei dieser Patientin von 0,815 (f-cell-1) um 17 % auf 0,956 (f-cell-2) zum Zeitpunkt nach ANH an (siehe Ergebnisteil **Tabelle 3.1.3b** und **Tabelle 3.2.2b**). Ein Anstieg in dieser Größenordnung weicht stark von den ansonsten nicht signifikanten f-cell-Änderungen bei ANH ab. Ähnliche, zum Teil sogar wesentlich geringere Zunahmen der f-cell-Fraktion waren jedoch bei VL beobachtet worden (Rehm et al. 2001³).

Auffällig ist zudem, dass trotz der ansonsten hohen Volumeneffekte (85 % - 90 %) der Kolloide 5 %-Albumin und 6 %-HES während ANH bei der erwähnten Patientin der HES-Gruppe nur 48,6 % des infundierten Kolloids intravasal verblieben waren. Dieser Volumeneffektwert entspricht eher den Ergebnissen der VL-Studie, die bei rund 40 % lagen (Rehm et al. 2001³). Es scheint daher ein gewisser Zusammenhang zwischen der Abnahme des ESL und der Höhe des zu erwartenden Volumeneffektes zu bestehen. Hohe Volumeneffekte sind bei Aufrechterhaltung der Normovolämie im Rahmen der ANH einhergehend mit einer nur geringen ESL-Veränderung zu erwarten, wohingegen die reine Kolloidinfusion ohne Blutentzug eine große Volumenabnahme des ESL bewirkt und nur niedrige Volumeneffekte ergibt. Immerhin besteht eine allerdings sehr geringe mathematische Verknüpfung nach dem „neuen Modell“ zwischen den beiden Größen Volumeneffekt und ESL-Änderung (siehe Methodikteil **2.5.1** Formel Nr. 6 sowie $\text{ESL-Volumen} = \text{PV-ICG} - \text{PV-circ}$). In **Abbildung 4.4** ist dieser Zusammenhang graphisch in einer linearen Regression dargestellt und Patientin Nr. 11 wiederum mit einem Kreis markiert.

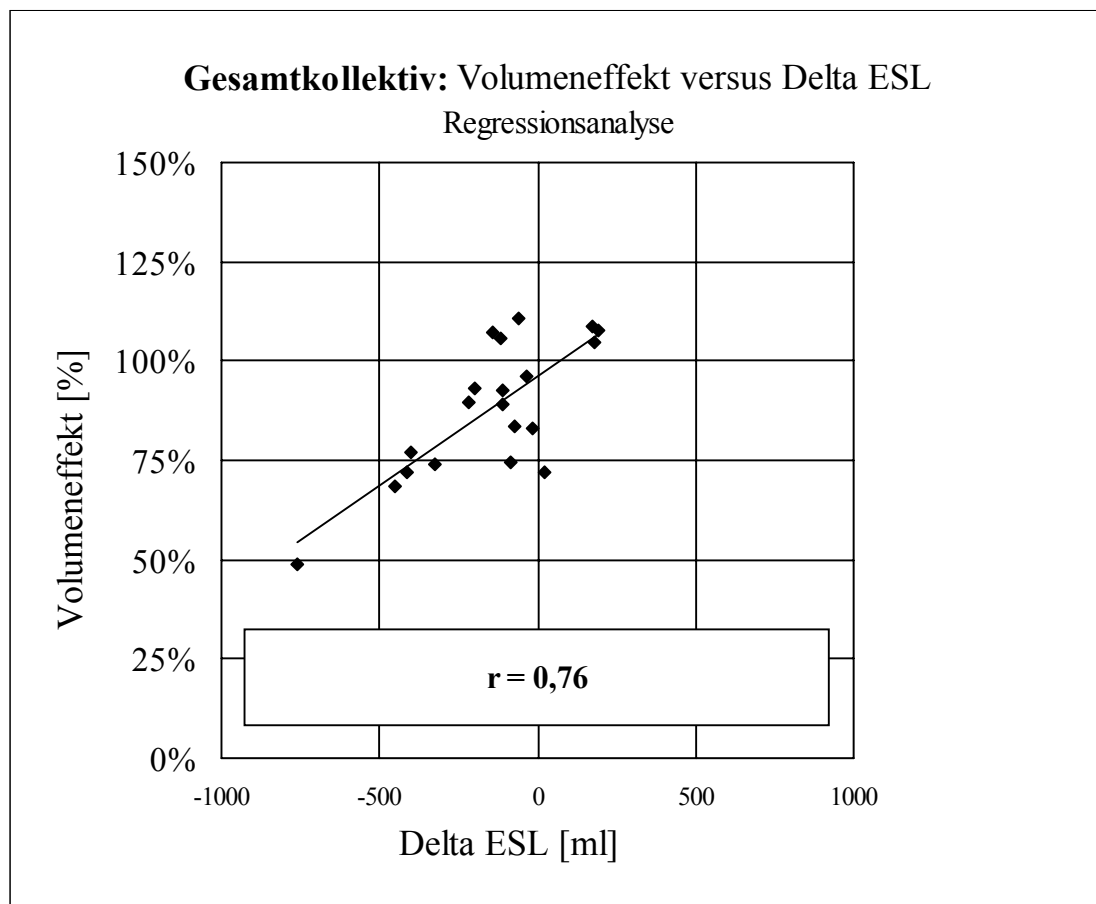


Abb. 4.4: Regressionsanalyse Volumeneffekt versus Delta ESL

Die Berechnungen nach dem „neuen Modell“ betreffen jedoch nicht ausschließlich die Plasmabilanz unserer Studie, sondern zusätzlich die Protein- und HES-Bilanzen. Hier stellt sich nun die Frage, ob das gemessene PV-ICG für die Kalkulation der Menge an intravasalem Protein (IVP) oder das zirkulierende Plasmavolumen PV-circ verwendet werden muss. Die Proben zur Messung der Protein- und HES-Konzentration (Prot-2 und cHES-1; siehe Ergebnisteil **Tabelle 3.2.4** und **3.2.5**) stammen aus arteriellen Blutentnahmen zum Zeitpunkt nach ANH, so dass davon auszugehen ist, dass es sich um Konzentrationen aus dem zirkulierenden Kompartiment handelt.

Nach dem „klassischen Modell“ wurde das gemessene PV-ICG für die Berechnung des IVP vor und nach ANH verwendet (Berechnungen siehe Methodikteil Kapitel **2.5.2** Formel Nr. 1). Dem „neuen Modell“ zufolge stellt jedoch PV-circ die richtige Variable für die IVP-Kalkulationen dar. Im Ergebnisteil erfolgten alle Berechnungen ausschließlich nach dem „klassischen Modell“ und es zeigte sich in der HA-Gruppe nach ANH ein IVP-Anstieg von 186 g (IVP-1) auf 204 g (IVP-2), also 18 g (Δ IVP). Rechnerisch hätte IVP-2 jedoch aufgrund einer Proteinzufuhr von 92 g und eines Proteinentzugs von 64 g um 28 g ansteigen müssen. Dies ergab ein Protein-Defizit von 10 g in der HA-Gruppe, entsprechend 11 % Protein, das intravasal nicht mehr nachweisbar war. Anders jedoch bei Kalkulationen unter Verwendung von PV-circ: Hier zeigt sich ein IVP-Anstieg von 25 g (Δ IVP) und somit ein deutlich geringeres IVP-Defizit von nur 3 g (siehe **Tabelle 4.2**).

In der HES-Gruppe war nach dem „klassischen Modell“ ebenfalls ein IVP-Verlust von rund 10 g nach ANH bilanziert worden, da IVP bei einem Proteinentzug von rund 46 g und ohne jegliche Proteinzufuhr von 181 g (IVP-1) auf 125 g (IVP-2) abgefallen war. Nach dem „neuen Modell“ (siehe **Tabelle 4.2**) jedoch sank das IVP nach ANH um lediglich 34 g in der HES-Gruppe, was in Anbetracht des Proteinentzuges von rund 46 g einer positiven Proteinbilanz, nämlich einem IVP-Anstieg von 12 g nach ANH gleichkäme. Dies erscheint nahezu unlogisch, da den Patientinnen der HES-Gruppe während ANH kein proteinhaltiges Kolloid infundiert wurde. Eine mögliche Erklärung für die anscheinend deutlich geringere Albumin-Extravasation in der HES-Gruppe könnte eine 1997 von Henry et al. beobachtete Retention von HES-Molekülen innerhalb des ESL sein. Dies führte in der Studie zur Abdichtung der Matrix und damit zur Abnahme der Extravasation von Dextranmolekülen (Henry et al. 1997).

In **Tabelle 4.2** sind noch mal die Protein- und HES-Bilanzen, berechnet nach dem „klassischen“ und nach dem „neuen Modell“, vergleichend dargestellt:

Tabelle 4.2

	„Klassisches Modell“ (Berechnungen mit PV-ICG)		„Neues Modell“ (Berechnungen mit PV-circ)	
	HA-Gruppe	HES-Gruppe	HA-Gruppe	HES-Gruppe
PV vor ANH [ml]	3067 ± 491 (PV-ICG)	2872 ± 419 (PV-ICG)	2389 ± 392 (PV-circ)	2294 ± 363 (PV-circ)
PV nach ANH [ml]	3521 ± 546 (PV-ICG)	3314 ± 343 (PV-ICG)	2926 ± 389 (PV-circ)	2947 ± 370 (PV-circ)
Prot vor ANH [g/l]	60,7 ± 3,6	63,1 ± 4,3	60,7 ± 3,6	63,1 ± 4,3
Prot nach ANH [g/l]	58,0 ± 2,7	37,5 ± 5,4	58,0 ± 2,7	37,5 ± 5,4
IVP vor ANH [g]	186 ± 32	181 ± 30	145 ± 25	145 ± 25
IVP nach ANH [g]	204 ± 34	125 ± 29	170 ± 23	111 ± 27
Δ IVP [g]	18,1 ± 14,9	-56,2 ± 16,1	25 ± 11	-34 ± 9
Proteinzufuhr [g]	92 ± 12	-	92 ± 12	-
Proteinentzug [g]	64,2 ± 11,4	46,7 ± 8,0	64,2 ± 11,4	46,7 ± 8,0
HES-Zufuhr [g]	-	88,14 ± 14,7	-	88,14 ± 14,7
cHES nach ANH [g/l]	-	18,9 ± 4,6	-	18,9 ± 4,6
IV-HES nach ANH [g]	-	62,33 ± 14,8	-	55,61 ± 14,68
Δ IV-HES [g]	-	-25,81 ± 8,98	-	-32,53 ± 9,93

Tabelle 4.2: Berechnungen zu Protein- und HES-Verlust aus dem Intravasalraum nach dem „klassischen“ und dem „neuen Modell“: PV = Plasmavolumen entsprechend dem gemessenen PV-ICG bei Berechnungen nach dem „klassischen Modell“ bzw. entsprechend dem zirkulierenden PV-circ bei Berechnungen nach dem „neuen Modell“; Prot = Proteinkonzentration im Plasma; IVP = intravasale Menge an Protein; Δ IVP = Differenz aus IVP nach ANH und IVP vor ANH; Proteinzufuhr = Menge an infundiertem Protein im Rahmen der ANH; Proteinentzug = Menge an entzogenem Protein im Rahmen der ANH; cHES = HES-Konzentration im Plasma; IV-HES = intravasale Menge an HES; HES-Zufuhr = Menge an infundiertem HES im Rahmen der ANH

Leider ist bis heute unbekannt, welche und wie viele Plasmaproteine der ESL beinhaltet (Pries et al. 2000). Daher sind Überlegungen zu einem „Protein-washout“ neben einem reinen „Flüssigkeits-washout“ aus dem ESL ins zirkulierende Kompartiment wohl eher spekulativ (Rehm et al. 2001³). Dennoch wäre dies eine sinnvolle Erklärung für den nach dem „neuen Modell“ kalkulierten Proteinüberschuss in der HES-Gruppe. In diesem Kollektiv wurde zusätzlich eine HES-Bilanz erstellt. Der klassisch mittels PV-ICG kalkulierte HES-Verlust lag bei 26 g. Nach dem „neuen Modell“ hingegen berechneten wir einen etwas höheren HES-Verlust von 33 g, das heißt, dass 33 g HES nach ANH aus dem Intravasalraum verschwunden sind. Dieser höhere HES-Verlust

ließe sich jedoch ebenfalls mit der Retention von HES-Molekülen innerhalb des ESL und damit verbundener HES-Verringerung im zirkulierenden Kompartiment erklären (Henry et al. 1997)

Es stellt sich nun die Frage, welche Kräfte und anatomischen Strukturen für die Verschiebungen von Flüssigkeiten und Kolloiden verantwortlich sind und welchen Regulationen und Einflüssen diese unterliegen.

Als Ursache für die niedrigen Volumeneffekte bei reiner Volumenbeladung könnten neben Veränderungen in der Hämodynamik auch das differenzierte Auftreten von Scherkräften eine Rolle spielen. Scherkräfte sind laut Pries et al. der wichtigste Faktor für die strukturelle Anpassung der Kapillardurchmesser an geringe Schwankungen im Sauerstoff-Bedarf (Pries et al. 2003). Die Gefäßweite und die Elastizität eines Gefäßes bestimmen dessen Gefäßwiderstand. Secomb et al. bestätigten in einem theoretischen Modell die Beobachtungen, dass in vivo höhere Gefäßwiderstände auftreten als in entsprechenden Glaskapillaren (Secomb et al. 1998). In einer Meta-Analyse 28 vorangegangener Arbeiten kamen Pries et al. 1998 zu dem Schluss, dass der ESL den Gefäßwiderstand deutlich erhöht. Unter Verwendung von Heparinase konnte während Hämodilution der ESL zerstört werden. Dabei zeigte sich eine erhebliche Abnahme des Gefäßwiderstands (Pries et al. 1998). Dies bestätigt die Hypothese, dass die in vivo höheren Gefäßwiderstände dem Vorhandensein eines ESL zuzuschreiben sind – eine Vermutung, die auch in neueren Tierversuchen an cerebralen Kapillaren von Mäusen bestätigt wurde (Vogel et al. 2000). Blutgefäße sind keine glatten, starren Röhren, und eben diese Ungleichförmigkeit erhöht an sich schon den Widerstand. Nun zeigten kürzlich Secomb et al. in einem theoretischen Modell mittels numerischer Kalkulation, dass in „ungleichförmigen“ Kapillaren, welche mit einem 0,7 µm dicken und verformbaren ESL ausgekleidet sind, der Gefäßwiderstand nur zweifach erhöht ist, im Gegensatz zu „ungleichförmigen“ Kapillaren ohne ESL, in denen er 3-4-fach zunimmt verglichen mit gleichförmigen Gefäßen (Secomb et al. 2002). Der ESL scheint also aufgrund einer gewissen Verformbarkeit diese Unebenheiten auszugleichen zu können. Die Anwesenheit eines verformbaren ESL kann zusätzlich transient auftretende Scherkräfte erheblich reduzieren (Secomb et al. 2002) und rasche Scherkraft-Änderungen stark abmildern (Secomb et al. 2001). Dies ermöglicht einen potentiellen

Schutz der Erythrozyten gegen Beschädigung, zu welcher es bei starken und schnellen Krafteinwirkungen von außen kommen kann. Betrachtet man den ESL als eine Matrix aus Molekülketten, so wird diese Matrix durch einen, verglichen mit dem osmotischen Druck im frei zirkulierenden Plasma, leicht erhöhten osmotischen Druck unter Spannung gehalten. Unter physiologischen Bedingungen sollen Scherkräfte fast komplett über diese Matrix an die Endotheloberfläche geleitet werden (Secomb et al. 2001). Somit spielt der ESL eventuell eine entscheidende Rolle für die Übertragung von Scherkräften auf die Endothelzellen. Darüber hinaus wird dem ESL eine signifikante hämodynamische Relevanz zugesprochen, die vermutlich von scherkraftabhängigen Veränderungen seiner Dicke herrührt (Pries et al. 1997). Scherkräfte treten an den Endothelzellen durch den kontinuierlichen Blutfluss auf. In einer Studie von Williams wurde an Endothelzellkulturen die Hypothese untersucht, dass Scherkraftveränderungen sich auf die Filtrationsrate auswirken. Williams kam dabei zu dem Ergebnis, dass kleine Venolen und gemischtvenöse Kapillaren auf einen mechanischen Stimulus mit einer Zunahme der hydraulischen Konduktivität, also der Filtrationsrate, antworteten, wohingegen Arteriolen nicht auf die Veränderungen der Scherkräfte reagierten (Williams 1999). Kurz darauf kamen Phelps und DePaola durch in vitro-Versuche an Monolayern zu dem Ergebnis, dass die endotheliale Barrierefunktion und Permeabilität für Makromoleküle von räumlichen Scherkraft-Veränderungen reguliert wird (Phelps und DePaola 2000). Die Endothelien der Blutgefäße bieten eine große Oberfläche und sind entscheidend in vielerlei Prozesse wie z.B. Blutfluss-Regulation, Entzündungsreaktionen und Blutgerinnung involviert. Da der ESL, wie sich in in vivo-Versuchen herausgestellt hat, ein großes Volumen besitzt (Pries et al. 2000), ist die Vermutung geradezu nahe liegend, dass der ESL nicht nur allein aufgrund seiner scherkraftabhängigen Volumenänderungen an der Barrierefunktion der Kapillaren beteiligt ist.

Die Betrachtungen zur Funktion des ESL gewinnen an weiterer Komplexität, wenn neben physikalischen Ursachen auch Unterschiede in der Ausschüttung volumenregulierender Hormone (ANP, BNP, Vasopressin, Bradykinin, Angiotensin) und deren Auswirkungen auf die vaskuläre Permeabilität in Betracht gezogen werden.

Ein Anstieg des atrialen natriuretischen Peptids (ANP), vermittelt durch Barorezeptoren im Vorhof bei intravaskulärer Volumenzunahme, wie z.B. im Rahmen einer Hämodilu-

tion mittels reiner Volumenbeladung, konnte bereits 1992 von Renkin et al. im Tierversuch an Ratten gezeigt werden (Renkin et al. 1992). Dass ANP die Permeabilität für Kapillaren erhöht, folgerten bereits 1989 Sugimoto et al. aus den Ergebnissen von Versuchen mit Ratten, die ANP-haltige Kochsalz-Infusionen erhielten und deren Blutvolumen deutlich geringer zunahm, als das der Kontrollgruppe ohne ANP-Zusatz (Sugimoto et al. 1989). Durch die vermehrte ANP-Ausschüttung kommt es neben einer vermehrten Wasserfiltration auch zur Zunahme der Extravasation von Plasmaproteinen wie z.B. Albumin (Tucker 1996¹, Tucker 1996², Isbister 1997). Eine Infusion von synthetischem ANP führte zu einer filtrationsunabhängigen, gewebespezifischen Zunahme des Albumin-Transports. Diese selektive Albumin-Abgabe ins Gewebe kann einen wirkungsvollen extrarenalen Mechanismus zur Wiederherstellung der Normovolämie während Volumenüberladung darstellen und übt damit starken Einfluss auf die Regulation des Plasmavolumens aus (Tucker et al. 1992). ANP kommt somit eine wichtige Rolle bei der Regulation der transkapillären Protein-Verteilung während akuter Zunahme des intravaskulären Volumens zu (Tucker 1996²).

Hier rückt nun wieder die interessante Blutvolumenkonstellation der Patientin Nr. 11 der HES-Gruppe ins Zentrum des Interesses: Eben diese Patientin bot ein ausgesprochen hohes initiales Plasmavolumen, nämlich 155 % vom Sollwert nach Pearson (Pearson et al. 1995) und eben deshalb liegt die Vermutung nahe, dass z.B. eine eventuell durch die Volumenüberladung erhöhte ANP-Ausschüttung zur Zunahme der hydraulischen Konduktivität geführt hatte. Dies würde die geringe Volumenwirksamkeit von nur 48,6 % des infundierten Kolloids erklären.

Bereits physiologische Konzentrationen von ANP können die Wasserfiltration von Gefäßen beeinflussen. Durch diesen Mechanismus können Peptide das Plasmavolumen überaus verändern. Zu diesem Schluss kamen Meyer und Huxley 1990 durch Versuche an mesenterialen Kapillaren von Fröschen. Dabei zeigten jedoch venöse und gemischte Kapillaren ein weitaus stärkeres Ansprechen auf die ANP-Infusion mit deutlicher Filtrationszunahme im Gegensatz zu arteriellen Kapillaren (Meyer und Huxley 1990). Dieses unterschiedliche Ansprechen verschiedener Gefäße auf volumenregulierende Hormone zeigten auch Versuche mit dem Vasodilatator Bradykinin. Dabei kam es zu unterschiedlich hohen und unterschiedlich langen Zunahmen der hydraulischen

Konduktivität, die zwischen dreifacher bis fünffacher Steigerung lagen, abhängig davon, ob es sich um venöse, gemischte oder arterielle Kapillaren handelte (Williams und Huxley 1993). Diese individuellen Antworten auf Hormone könnten dabei auch an spezifischen Interaktionen zwischen den Peptidhormonen und dem ESL liegen. Weitere Versuche derselben Studiengruppe an mesenterialen Kapillaren von Fröschen mit verschiedenen vasoaktiven Hormonen (ANP, Bradykinin, Acetylcholin, Angiotensin II und Norepinephrin) bestätigten jedoch nicht die Hypothese, dass vor allem die venösen Kapillaren von einer hormoninduzierten Alteration betroffen sind. Alle untersuchten Hormone außer Angiotensin II und Norepinephrin erhöhten die hydraulische Konduktivität mit ähnlicher Wirkung bei allen Kapillar-Arten (Huxley et al. 1993). Unter anderem daraus lässt sich folgern, dass die Konzentration von ANP im Plasma als Marker für akute Volumenüberladung angesehen werden darf (Borgeson et al. 1998). Diese Ergebnisse deuten auf eine entscheidende Vermutung hin, nämlich dass vasoaktive Hormone unabhängig von den Starling-Kräften die vaskuläre Permeabilität, also die Barrierefunktion in Mikrogefäßen beeinflussen können.

Nach dem sogenannten Starling-Gesetz (Starling 1896) ist der effektive Filtrationsdruck gleich der Differenz von hydrostatischen und osmotischen Drücken innerhalb und außerhalb eines Gefäßes. Ein Ungleichgewicht dieser als Starling-Kräfte bezeichneten hydrostatischen und osmotischen Drücke führt zur Änderung der Filtration. So kann ein erhöhter Druck im Kapillarbett (etwa bei Herzinsuffizienz) oder ein gesenkter kolloidosmotischer Druck z.B. durch erniedrigte Plasmaeiweißkonzentration (beispielsweise bei Leberzirrhose) oder durch eine erhöhte Durchlässigkeit der Blutkapillaren für Proteine (wie z.B. im Rahmen der Anaphylaxie aufgrund der Histaminausschüttung) Volumen aus dem Plasma ins Interstitium verlagern. Da mit Ausnahme der Leber und bedingt auch des Magen-Darm-Trakts nur wenig Protein im Interstitium enthalten ist (nur etwa 10 % der Plasmakonzentration), wird der kolloidosmotische Druck des Interstitiums meist als nahe Null angesetzt.

Nun bringen jedoch aktuelle Studien berechtigte Zweifel auf, dass die Starling-Kräfte allein für die mikrovaskuläre Flüssigkeitsfiltration verantwortlich sind: In tierexperimentellen Versuchen an einem Modell, dem isolierten, perfundierten Meerschweinchen-Herzen, kamen Rehm et al. zu dem erstaunlichen Ergebnis, dass eine Infusion von

5 %-Albumin zu keiner Reduktion der Nettofiltration gegenüber der Infusion von 6 %-HES führte, obwohl die Albumin-Konzentration dreimal höher als die HES-Konzentration war (Rehm et al. 2004).

Bereits 1997 von Michel und 1998 von Weinbaum geäußerte Vermutungen, dass der ESL maßgeblich an der Regulation von Wasser- und Molekültransport beteiligt ist und dass die Starling-Kräfte von einer lokalen Differenz der hydrostatischen und kolloidosmotischen Drücke durch den ESL abhängen (Michel 1997, Weinbaum 1998), konnten bereits kurze Zeit später bestätigt werden: Versuche an einzelnen mesenterialen Kapillaren von Fröschen bestätigten, dass die effektive onkotische Kraft, die entgegengesetzt der Flüssigkeitsfiltration durch die Mikrogefäßwand wirkt, der lokale onkotische Druck durch den ESL ist. Es handelt sich also nicht wie bisher angenommen um globale, über die gesamte endotheliale Schicht wirkende Starling-Kräfte bzw. der Differenz zwischen Plasma und Gewebe nach dem Starling-Gesetz. Vielmehr sind die der Filtration entgegen gesetzten onkotischen Kräfte stärker, als sich nach den Unterschieden der Protein-Konzentration zwischen Blut und Gewebe vermuten lässt. Der transkapilläre Flüssigkeitsfluss ist somit geringer, als nach den globalen Unterschieden zwischen onkotischem und hydrostatischen Drücken ableitbar wäre (Hu und Weinbaum 1999, Hu et al. 2000).

Ein starker kolloidosmotischer Druckanstieg intravasal im Vergleich zu einem direkt hinter dem ESL vermutlich niedrigen onkotischen Druck erklärt die während HES-Infusion am Modell des isolierten, perfundierten Meerschweinchen-Herzen beobachtete Reduktion der Nettofiltration (Rehm et al. 2004). Warum nun im Gegensatz zu HES die Albumin-Infusion die Nettofiltration geringgradiger reduzierte, begründen Rehm et al. mit der Beobachtung von Vink und Duling, dass der ESL eine bemerkenswerte Permeabilität für Albumin aufweist (Vink und Duling 2000). Die Bindung von Albumin im ESL führt dabei zur Reduktion der hydraulischen Konduktivität (Huxley und Curry 1985, Huxley und Curry 1987, Michel et al. 1985).

Eine genaue Analyse der transkapillären Filtration erstellten Kellen und Basingthwaighte 2003 am Modell unter anderem mittels Kochsalzlösung, Harnstoff, Albumin und Raffinose perfundierter Kaninchen-Herzen und kamen zu dem Ergebnis,

dass ungefähr 28 % der Flüssigkeitsfiltration durch die Endothelzellmembranen vermutlich hauptsächlich durch bestimmte Wasserkanäle, die sogenannten Aquaporine gelangt. Die Spalten (sogenannte „gaps“) zwischen den Endothelzellen bewirken etwa 67 % der Wasserfiltration und sind so weit, dass sie kein Hindernis für Moleküle wie z.B. das Trisaccharid Raffinose (Molekulargewicht 595 Da, Trainor und Silverman 1982) darstellen. Für die verbleibenden 5 % Filtration dienen vereinzelte große Poren (Kellen und Bassingthwaite 2003). Im Tiermodell zeigte sich bei osmotischer Konzentrationserhöhung um 30 mmol eine Wasserfiltration in umgekehrter Richtung, die fast 800-mal höher war und komplett transendothelial verlief, weil kein Druckgradient durch die Poren entstand. Besonders lange Zeit blieben die transendothelialen Gradienten während Albumin-Infusion erhalten, da Albumin aufgrund seines Molekulargewichts nicht durch „gaps“ und kleinere Poren geht (Kellen und Bassingthwaite 2003).

Bereits 1992 wurde von Weinbaum et al. ein 3D-Modell zur hydraulischen Konduktivität und der Permeabilität der kapillären Endothel-Spalten entwickelt, nach dem diese aus einem verbindenden sogenannten „junktionalen Strang“ und vereinzelten Poren sowie einer „Fiber-Matrix“ bestehen. Ob die Wasserfiltration dabei über eine geordnete oder eher eine ungeordnete, zufällige Anordnung der die Endothelspalten überbrückenden Fasern verläuft, ist nach diesem Modell noch unklar (Weinbaum et al. 1992). Vor kurzem entwickelten Adamson et al. ein weiteres hydrodynamisches 3D-Modell unter Verwendung von Elektronenmikroskopie welches bestätigt, dass die Flussgeschwindigkeit an den Endothel-Spalten hoch war. Damit wird der Albumin-Fluss vom Gewebe zur luminalen Seite der Endothelzellverbindungen (den sogenannten „tight junctions“) reduziert. Es zeigte sich somit, dass auch bei relativ niedrigem hydrostatischem Druck die Albumin-Konzentration auf der zum Gewebe hin befindlichen Seite des ESL signifikant geringer war als im Interstitium. Diese Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass die der Filtration entgegen gesetzten kolloidosmotischen Kräfte vom ESL entwickelt werden, und dass der onkotische Druck der interstitiellen Flüssigkeit nicht direkt den Flüssigkeits-Ausgleich durch das mikrovaskuläre Endothel verursacht (Adamson et al. 2004).

Durch diese Untersuchungen gewinnt das bereits 1980 unter Einbeziehung des ESL als kompliziertes „Fiber-Matrix-Modell“ bezeichnete Bild der endothelialen Barriere (Curry und Michel 1980) an weiterer Komplexität. Um die Bedeutung des ESL für die vaskuläre Permeabilität zu beweisen, wurden in den letzten Jahren mehrere Versuche unter Verwendung von Enzymen, die den ESL zerstörten, durchgeführt (Sunnergren et al. 1987, Adamson 1990, Peterson und Gruenhaupt 1992, Huxley und Williams 2000, Dull et al. 2003). Diese führten jedoch zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen, wobei die Zerstörung des ESL teilweise gar keine (Dull et al. 2003), moderate (Sunnergren et al. 1987) oder auch extreme (Peterson und Gruenhaupt 1992) Auswirkungen auf die Durchlässigkeit der Kapillaren für Flüssigkeit oder Makromoleküle hatte.

Zur Klärung dieser teilweise widersprüchlichen Aussagen führten Rehm et al. unter Verwendung des bereits erwähnten Tiermodells (perfundiertes Meerschweinchen-Herz) Versuche mit Heparinase-, Histamin- und ANP-Gabe während Albumin- oder HES-Infusion durch und untersuchten unter anderem auch die Auswirkungen von kompletter warmer Ischämie auf die Nettofiltration und den Koronarfluss. Aus den Ergebnissen dieser Studie gelangten die Autoren zu dem Schluss, dass die Auswirkungen der Interventionen davon abhängen, ob in erster Linie allein der ESL (z.B. durch Heparinase) zerstört wird, oder zusätzlich zum ESL auch die Endothelzellbarriere (z.B. durch Ischämie oder Histamin-Gabe) selbst angegriffen wird. Während die Zerstörung des ESL allein (ebenso wie eine Einwirkung auf die Endothelzellen allein) nur geringe Auswirkungen auf die vaskuläre Permeabilität hatten, zeigte sich ein starker Effekt bezüglich der Permeabilitäts-Zunahme, wenn sowohl Endothelzellbarriere als auch die Barrierefunktion des ESL alterniert worden waren. Dies führte zum von Rehm et al. als „Double-Barrier-Konzept“ bezeichneten Modell der zwei kompetenten Barrieren von mikrovaskulären Gefäßwänden (Rehm et al. 2004). Dabei fungiert der ESL wie ein zusätzlicher Schutz der Endothelzellen, die mit einer Lückenbildung, der sogenannten „gap formation“ durch reversibles Anschwellen und Kontrahieren der Endothelzellen (Garcia-Dorado und Oliveras 1993) auf Ischämie reagieren. Ebenfalls kompensiert der ESL ein durch Histamin hervorgerufenen „Undichtsein“ der Endothelzellbarriere durch passives Zusammenziehen oder aktive Kontraktion der Zellen (Baldwin und Thurston 2001). Somit führt nur eine Alteration beider Barrieren,

also des ESL *und* der zellulären Barriere, zum Verlust der Dichtigkeit der Gefäßwand. Über welche exakten Mechanismen der ESL letztlich die Endothelzelldeformation ausgleicht, ist noch unklar. Jedoch scheint es vorstellbar, dass sich der ESL schützend über die entstandenen Zell-Lücken legt (Rehm et al. 2004). Eine weitere wichtige Aussage dieser Versuche betraf die Gabe von ANP. Dabei zeigte sich immer ein signifikanter Permeabilitätsanstieg für Flüssigkeit und Kolloide. Rehm et al. vermuteten daher, dass ANP beide Barrieren alterniert (Rehm et al. 2004). Bruegger et al. konnten die Alteration des ESL durch ANP eindeutig anhand freiwerdender abgesonderter ESL-Bestandteile (Syndecan-1 und Heparansulfat) nachweisen (Bruegger et al. 2005). Diese Hypothese würde wiederum eine sinnvolle Erklärung für die während VL beobachtete Extravasation von Flüssigkeit und Kolloiden und die Abnahme des ESL (Rehm et al. 2001³) darstellen, da die ANP-Ausschüttung während akuter Volumenüberladung eine Schlüsselrolle für die Wiederherstellung der Normovolämie innehat (Isbister 1997).

Insbesondere bei dem in der hier vorliegenden Studie untersuchten, an Zervixkarzinom erkrankten Patientinnen-Kollektiv rücken tumorbedingte Einflüsse auf die Volumenregulation ins Zentrum des Interesses: So wiesen Skinner et al. bei hohen supraphysiologischen (100 ng/ml) Konzentrationen des tumorassoziierten Zytokins TNF in Gefäßen einen zweifachen Anstieg der Wasserfiltration nach, wohingegen TNF-Konzentrationen von 150 pg/ml und 10 ng/ml keine Filtrationsänderung bewirkten (Skinner et al. 1999). Möglicherweise alterieren diese Zytokine neben dem ESL auch die zelluläre Barriere (Henry und Duling 2000). Interessant wären daher Betrachtungen zu Zytokin-Konzentrationen im Blut von an einem Malignom erkrankten Patienten in Verbindung mit Analysen deren Blutvolumenstatus. Derartige Studien liegen jedoch zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vor.

Der ESL scheint also neben einer Reihe von wichtigen regulatorischen auch eine vasoprotektive Funktion innezuhaben. Dennoch zeigte sich in diversen Studien eine gewisse „Verletzbarkeit“ dieser vaskuläre Barriere. Auswirkungen von Scherkräften, Zytokinen und hormonellen oder gar phototoxischen (van Haaren et al. 2003) Faktoren auf die Integrität der vaskulären Barriere und insbesondere ihres auch als endotheliale Glykokalyx bezeichneten Bestandteils, dem ESL, sollten daher in den kommenden Jahren untersucht werden, um Eingriffe in das menschliche Blutvolumen z.B. durch

Infusionstherapie oder Hämodilution insbesondere an Patienten in der Tumorchirurgie effektiver durchführen zu können. Und schenkt man dem 1994 geäußerten Versprechen von Renkin Glauben, so erwarten uns im 21. Jahrhundert viele aufregende neue Entwicklungen und Erkenntnisse der Forschung im Bereich der Mikrozirkulation (Renkin 1994).

5 ZUSAMMENFASSUNG

Da es ein erklärtes Ziel der modernen Medizin ist, Fremdbluttransfusionen zu vermeiden, untersuchten wir in der vorliegenden Studie die Methode der akuten normovolämen Hämodilution (ANH) bezüglich ihrer Effektivität und Anwendbarkeit im klinischen Alltag. Dabei zeigte sich, dass selbst wenn nicht alle Kriterien, die als Voraussetzung für effektiven Einsatz der ANH gelten, erfüllt werden (wie z.B. ein hoher präoperativer Hämatokrit, ein niedriger Zielhämatokrit sowie ein möglichst großer chirurgischer Blutverlust) die Durchführung einer ANH zu signifikanten Fremdbluteinsparungen führen kann. So gelang es im Rahmen dieser Studie in beiden untersuchten Patientinnen-Kollektiven rund ein Erythrozytenkonzentrat einzusparen. Trotz eines zum Teil niedrigen Ausgangshämatokrits von unter 33 Vol.%, wie an drei Einzelfällen demonstriert wurde, stellte sich die Durchführung einer ANH als fremdblutsparende Methode bei der Durchführung einer Wertheim-Operation bei an Zervixkarzinom erkrankten Patientinnen als sinnvoll heraus. Mit Hilfe einer „Double-Label-Methode“, nämlich der gleichzeitigen Messung von Erythrozytenvolumen (mit autologen Fluorescein-markierten Erythrozyten) und Plasmavolumen (mittels Indocyaningrün-Dilutionsmethode), gelang es, das präoperative Blutvolumen exakt zu quantifizieren. Dabei konnte eine spezielle Blutvolumen-Konstellation, die sich bereits in vorausgegangenen Studien bei Wertheim-Patientinnen gezeigt hatte, und die durch ein sehr hohes Plasmavolumen kombiniert mit einem nur leicht reduzierten Erythrozytenvolumen charakterisiert ist, nachgewiesen werden. Dies täuscht jedoch eine präoperative Anämie durch einen erniedrigten initialen Hämatokrit nur vor. Wird dies durch den Einsatz der „Double-Label-Methode“ vor einer Operation erkannt, so verspricht die Anwendung der ANH erfolgreiche Erythrozyten-Einsparungen. Dies erreicht die ANH nicht zuletzt aufgrund ihrer hervorragenden Umsetzung des Prinzips der zwei Transfusionstrigger, die einen sehr ökonomischen Umgang mit den Erythrozyten-Ressourcen der Patienten ermöglicht. Dabei wird ein niedriger Hämatokrit während Hämodilution in stabiler Narkose mit einer späteren Anhebung des Hämatokrits durch Transfusion des ANH-Blutes bei erhöhtem Sauerstoffbedarf in der postoperativen Phase kombiniert. Dies bestätigt insgesamt die Effektivität der ANH und spricht dafür, dass sich ihre Anwendung im Rahmen operativer Eingriffe als fremdblutsparende Maßnahme eignet.

Weiterhin wurden in den beiden Patientenkollektiven die Volumeneffekte der beiden während ANH verwendeten Kolloide 5 %-Humanalbumin (HA) und 6 %-Hydroxyethylstärke (HES) untersucht. Kolloide und Kristalloide werden weltweit in großem Umfang eingesetzt. Trotz alledem bieten viele Studien keine verlässlichen Aussagen zu den Volumeneffekten der jeweiligen Plasmaersatzmittel, da diese entweder mittels Single-Label-Messung oder sogar nur über die alleinige Hämatokritänderung (bei vorausgesetztem „normwertigen“ Blutvolumen) kalkuliert werden. In der vorliegenden Studie wurden die Volumeneffekte über „Double-Label-Messung“ berechnet und dabei 85 % Volumeneffekt für HA und 90 % für HES ermittelt. Mit dieser als derzeitiger Goldstandard angesehenen Messmethodik kann durch Bestimmung der Blutvolumina vor und nach Volumengabe die Volumenwirkung von Kolloiden und Kristalloiden exakt eingeschätzt werden, wohingegen es zu einer Überschätzung der Volumeneffekte um 20 - 30 % bei Kalkulation allein über die Hämatokritänderung (der sogenannten HDM-Methode) kommt. Berechnungen mittels der HDM-Methode setzen voraus, dass die Hämatokritveränderung in allen Gefäßabschnitten gleich ist. Nach einer 1928 von Fahraeus postulierten Hypothese und bestätigt durch elektronenmikroskopische Aufnahmen liegt der mikrovaskuläre Hämatokrit erheblich unter dem makrovaskulären Hämatokrit. Dies erklärt, dass der Quotient aus Ganzkörperhämatokrit WBH und Großgefäßhämatokrit Hct_{LV} , der sogenannte f-cell-Wert üblicherweise kleiner als 1 ist. Die Konstanz dieses Faktors und somit die Hypothese, dass die Hämatokritveränderung in allen Gefäßabschnitten gleich ist, kann durch Beobachtungen in Verbindung mit hypervolämer Hämodilution (VL), die einen signifikanten f-cell-Anstieg zeigten, angezweifelt werden. Im Rahmen des „volume loading“ wurden sehr viel geringere Volumeneffekte erzielt, als bei ANH. Dies führt zu dem Schluss, dass hohe Volumeneffekte bei Aufrechterhaltung der Normovolämie im Rahmen der ANH zu erwarten sind, wohingegen reine Kolloidinfusion ohne Blutentzug nur niedrige Volumeneffekte ergibt. Erklärungen dafür brachten neuere Betrachtungen der Mikrostrombahn unter Verwendung der Intravitalmikroskopie, die das „klassische Modell“ und die Fahraeus-Hypothese infrage stellten. Es wurde eine Zone mit einer Dicke von 0,4 bis 1,5 μm entdeckt, die Erythrozyten komplett ausschließt, aus nicht-zirkulierendem oder sich nur ganz langsam bewegendem Plasma besteht und als „endothelial surface layer“ (ESL) bezeichnet wird.

Dieses „neue Modell“ der Mikrozirkulation in Kapillaren impliziert damit, dass man das Plasmavolumen in zwei Kompartimente, nämlich das zirkulierende Plasmavolumen (PV-circ) und das restliche nicht-zirkulierende Plasmavolumen im ESL unterteilen kann, wobei der Hämatokrit in der zentralen zirkulierenden Säule der Mikrostrombahn nicht von Hct_{LV} differiert. Das ESL-Volumen bleibt dabei bei künstlicher Zufuhr von Infusionslösungen oder durchgeführter Hämodilution vermutlich nicht konstant. Ergebnisse der Intravitalmikroskopie bestärken die Annahme, dass das mittels ICG gemessene Plasmavolumen eher dem Gesamt-Plasmavolumen als allein dem PV-circ entspricht und Berechnungen führten zu dem Ergebnis, dass der ESL dem zirkulierenden Plasmavolumen Flüssigkeit zur Verfügung stellen kann. In der hier vorliegenden Studie fiel die ESL-Änderung noch relativ gering aus, dennoch scheint das Phänomen „Volumenänderung des ESL“ von großer klinischer Relevanz zu sein. Ein signifikanter f-cell-Anstieg, wie nach VL beobachtet, spricht für einen „zusätzlichen Volumeneffekt“ durch Mobilisation von Flüssigkeit aus dem ESL und somit einer Umverteilung des Plasmavolumens. Auch scheint ein gewisser Zusammenhang zwischen der Abnahme des ESL und der Höhe des zu erwartenden Volumeneffektes zu bestehen. Auf die Frage, welche Kräfte und anatomischen Strukturen für die Verschiebungen von Flüssigkeiten und Kolloiden verantwortlich sind und welchen regulierenden Einflüssen diese unterliegen, rücken das differenzierte Auftreten von Scherkräften und Unterschiede in der Ausschüttung volumenregulierender Hormone (ANP, BNP, Vasopressin, Bradykinin, Angiotensin) und deren Auswirkungen auf den ESL in den Vordergrund. Dabei kommt insbesondere ANP eine wichtige Rolle bei der Regulation der transkapillären Protein-Extravasation während akuter Zunahme des intravaskulären Volumens zu. Durch die vermehrte ANP-Ausschüttung bei Volumenbelastung kommt es nämlich neben einer vermehrten Wasserfiltration auch zur Zunahme der Extravasation von Plasmaproteinen. Der ESL scheint also eine wesentliche Rolle bei der vaskulären Barrierefunktion inne zu haben. In künftigen Studien sollten daher Einflüsse auf den ESL eingehend untersucht werden, um weitere Einblicke in die Mikrozirkulation zu erhalten und damit Eingriffe in das menschliche Blutvolumen z.B. durch Infusionstherapie oder Hämodilution im klinischen Alltag effektiver ausüben zu können.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Adamson RH, Lenz JF, Zhang X, Adamson GN, Weinbaum S, Curry FE. (2004) Oncotic pressures opposing filtration across non-fenestrated rat microvessels. *J Physiol*. 2004 Jun 15;557(Pt 3):889-907. Epub 2004 Apr 8.
- Adamson RH. (1990) Permeability of frog mesenteric capillaries after partial pronase digestion of the endothelial glycocalyx. *J Physiol*;428:1-13
- Allain JP. (2003) Transfusion risks of yesterday and of today. *Transfusion Clinique et Biologique*; 10:1-5
- American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. (1996) Practice Guidelines for blood component therapy: Anesthesiology. 1996 Mar;84(3):732-47.
- Baldwin AL, Thurston G. (2001) Mechanics of endothelial cell architecture and vascular permeability. *Crit Rev Biomed Eng*;29:247-278
- Baker KL. (1966) Binding of sulfobromophthalein (BSP) sodium and indocyanine green (ICG) by plasma and α l lipoproteins. *Proc Soc Biol Med*;122:957-63
- Barbee JH, Cokelet GR. (1971) Prediction of blood flow in tubes with diameters as small as 29 μ . *Microvasc Res*;3:17 -21
- Bengtsson A, Bengtson JP. (1996) Autologous blood transfusion: preoperative blood collection and blood salvage techniques. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1996 Sep;40(8 Pt 2):1041-56.
- Berg S, Golster M, Lisander B. (2002) Albumin extravasation and tissue washout of hyaluronan after plasma volume expansion with crystalloid or hypooncotic colloid solutions. *Acta Anaesthesiol Scand*;46:166-172

- Blackbourn DJ, Ambroziak J, Lennette E, Adams M, Ramachandran B, Levy JA. (1997) Infectious human herpesvirus 8 in a healthy North American blood donor. *Lancet*. 1997 Mar 1;349(9052):609-11.
- Blair NP, Evans MA, Lesar TS, Zeimer RC. (1986) Fluorescein and fluorescein glucuronide pharmacokinetics after intravenous injection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27:1107-1114
- Blajchman MA. (2002¹) Immunomodulation and blood transfusion. *Am J Ther*. 2002 Sep-Oct;9(5):389-95.
- Blajchman MA. (2002²) Incidence and significance of the bacterial contamination of blood components. *Dev Biol (Basel)*. 2002;108:59-67.
- Blajchman MA, Goldman M, Webert KE, Vamvakas EC, Hannon J, Delage G. (2004) Proceedings of a consensus conference: The screening of blood donors for variant CJD. *Transfus Med Rev*. 2004 Apr;18(2):73-92.
- Blajchman MA, Hebert PC. (2001) Red blood cell transfusion strategies. *Transfus Clin Biol*. 2001 Jun;8(3):207-10
- Blomqvist H, Sundell K. (2003) Intensive care patients need blood transfusion--with limits. Risks must be weighed against potential benefit. *Lakartidningen*. 2003 Oct 16;100(42):3307-10.
- Blumberg N, Heal JM. (2000) Transfusion immunomodulation. In: Anderson KC, Ness PM, eds. *Scientific basis of transfusion medicine*. 2nd ed. Philadelphia: W B Saunders, 2000:427-443.
- Boldt J. (2001) Volumenersatz bei kritisch kranken Intensivpatienten. In: *Volumenersatztherapie*, Joachim Boldt (Hrsg.) Thieme Verlag. Stuttgart S171-187

- Bollinger A, Saesseli B, Hoffmann U, Franzeck UK. (1991) Intravital detection of skin capillary aneurysms by videomicroscopy with indocyanine green in patients with progressive systemic sclerosis and related disorders. *Circulation*;83:546-51
- Borgeson DD, Stevens TL, Heublein DM, Matsuda Y, Burnett JC. (1998) Activation of myocardial and renal natriuretic peptides during acute intravascular volume overload in dogs: functional cardiorenal responses to receptor antagonism. *Clin Sci (Lond)*. 1998 Aug;95(2):195-202.
- Bourke DL und Smith TC. (1974) Estimating allowable hemodilution. *Anesthesiology*;41:609-612
- Bradley EC, Barr JW. (1968) Determination of blood volume using indocyanine green (Cardio green) dye. *Life Sci*;7:1001-1007
- Brauer KI, Svensen C, Hahn RG, Traber LD, Prough DS. (2002) Volume kinetic analysis of the distribution of 0.9% saline in conscious versus isoflurane-anaesthetized sheep. *Anesthesiology*;96:442-449
- Brecher ME, Rosenfeld M. (1994) Mathematical and computer modeling of acute normovolemic hemodilution. *Transfusion*. 1994 Feb;34(2):176-9.
- Brismar B, Hedenstierna G, Lundh R, Tokics L. (1982) Oxygen uptake, plasma catecholamines, and cardiac output during neurolept-nitrous oxide and halothane anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand*;26:541-549
- Bruegger D, Jacob M, Rehm M, Loetsch M, Welsch U, Conzen P, Becker BF (2005) Atrial natriuretic peptide induces shedding of endothelial glycocalyx in coronary vascular bed of guinea pig hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005 Nov;289(5):H1993-9.

- Brülsauer M, Bollinger A. (1991) Measurement of different human microvascular dimensions by combination of videomicroscopy with Na-fluorescein (NaF) and indocyanine green (ICG) in normals and patients with systemic sclerosis. *Int J Microcirc Clin Exp*;10:21-31
- Bryson GL, Laupacis A, Wells GA. (1998) Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. The international study of perioperative transfusion. *Anesth Analg*;86:9-15
- Cai S, Wu Z, Zhou J, Yin Z. (1998) Blood volume redistribution on fluid treatments after burn-blast combined injury, especially with respect to the regulation role of microcirculation due to the Fahraeus effect. *Clin Hemorheol Microcirc*. 1998 Jul;18(2-3):125-33.
- Carson JL, Altman DG, Duff A, Noveck H, Weinstein MP, Sonnenberg FA, Hudson JI, Provenzano G. (1999) Risk of bacterial infection associated with allogeneic blood transfusion among patients undergoing hip fracture repair. *Transfusion*. 1999 Jul;39(7):694-700.
- Casati V, Speziali G, D'Alessandro C, Cianchi C, Antonietta Grasso M, Spagnolo S, Sandrelli L. (2002) Intraoperative low-volume acute normovolemic hemodilution in adult open-heart surgery. *Anesthesiology*. 2002 Aug;97(2):367-73.
- Chaplin H, Mollison PL. (1952) Correction for plasma trapped in the red cell column of the hematocrit. *Blood*. 1952 Dec;7(12):1227-38.
- Chaplin H, Mollison PL, Vetter H. (1953) The body/venous hematocrit ratio: its constancy over a wide hematocrit range. *J Clin Invest*;32:1309-16
- Christensen P, Andersson J, Rasmussen, SE, Andersen PK, Henneberg SW. (2001) Changes in circulating blood volume after infusion of hydroxyethyl starch 6 % in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand*;45:414-420

- Consensus conference (1988) Perioperative red blood cell transfusion. JAMA;260:2700-2703
- Curry FE, Michel CC. (1980) A fiber matrix model of capillary permeability. Microvasc Res;20:96-99
- Degremont AC, Ismail M, Arthaud M, Oulare B, Mundler O, Paris M, Baron JF. (1995) Mechanisms of postoperative prolonged plasma volume expansion with low molecular weight hydroxyethyl starch (RES 200/0,62, 6 %). Intensive Care Med;21:577-583
- Desjardins C, Duling BR. (1990) Heparinase treatment suggests a role for the endothelial cell glycocalyx in regulation of capillary hematocrit. Am J Physiol;258:H647-H654
- Desjardins C, Duling BR. (1987) Microvessel hematocrit: measurement and implications for capillary oxygen transport. Am J Physiol;252:H494-H503
- Dieterich HJ. (2001) Kolloide in der Intensivmedizin. Der Anaesthesist;50:54-68
- Dodd RY. (2003) Bacterial contamination and transfusion safety: experience in the United States. Transfusion Clinique et Biologique;10:6-9
- Drobin D, Hahn RG. (2002) Kinetics of isotonic and hypertonic plasma volume expanders. Anesthesiology;96:1371-1380
- Dull RO, Dinavahi R, Schwartz L, Humphries DE, Berry D, Sasisekharan R, Garcia JGN. (2003) Lung endothelial heparan sulfates mediate cationic peptide- induced barrier dysfunction: a new role for the glycocalyx. Am J Physiol;285:L986-L995
- Ehrlich, P. (1882) Ueber provocerite Fluorescenzerscheinungen am Auge Dtsch Med Wochenschr 8,35-37

- Fahraeus R. (1928) Die Strömungsverhältnisse und die Verteilung der Blutzellen im Gefäßsystem. *Klin Wochenschr*;7:100-6
- Feldman JM, Roth JV, Bjoraker DG. (1995) Maximum blood savings by acute normovolemic hemodilution. *Anesth Analg*; 80:108-113
- Fischer SR, Bumet M, Traber DL, Prough DS, Kramer Ge. (1999) Plasma volume expansion with solutions of hemoglobin, albumin and Ringer's lactate in sheep. *Am J Physiol*;276:H2194-H2203
- Förster H, Wicarkzyk C, Duziak R. (1981) Bestimmung der Plasmaelimination von Hydroxyethylstärke und von Dextran mittels verbesserter analytischer Methode. *Infusionstherapie*;2:88-94
- García-Dorado D, Oliveras J. (1993) Myocardial oedema: a preventable cause of reperfusion injury? *Cardiovasc Res*;27:1555-1563
- Geers AB, Koomans HA, Boer P, Dorhout Mees EJ. (1984) Plasma and blood volumes in patients with the nephrotic syndrome. *Nephron*;38:170-3
- Gehan EA, George SL. (1970) Estimation of human body surface area from height and weight. *Cancer Chemother Rep*;54:225-235
- Goodnough LT. (2003) Autologous blood procurement - acute normovolemic hemodilution vs. preoperative autologous blood donation *Zentralbl Chir.* 2003 Jun;128(6):462-7.
- Goodnough LT, Despotis GJ, Parvin CA. (1997) Erythropoietin therapy in patients undergoing cardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 1997 Dec;64(6):1579-80.
- Goodnough LT, Monk TG, Despotis GJ, Merkel K. (1999) A randomized trial of acute normovolemic hemodilution compared to preoperative autologous blood donation in total knee arthroplasty. *Vox Sang.* 1999;77(1):11-6.

- Gross JB. (1983) Estimating allowable blood loss: corrected for dilution. *Anesthesiology*;58:277-280
- Habler OP, Kleen MS, Hutter JW, Podtschaske AH, Tiede M, Kemming GI, Weite MV, Corso CO, Batra S, Keipert NS, Faithfull NS, Messmer KFW. (1998) Effects of hyperoxic ventilation on hemodilution-induced changes in anesthetized dogs. *Transfusion*;38:135-144
- Hahn RG. (1987) A haemoglobin dilution method (HDM) for estimation of blood volume variations during transurethral prostatic surgery. *Acta Anaesthesiol Scand*;31:572-578
- Hahn RG. (1988) Blood volume during transurethral prostatic resection. *Acta Anaesthesiol Scand*;32:629-637
- Haller M, Akbulut C, Brechtelsbauer H, Fett W, Briegel J, Finsterer U, Peter K. (1993) Determination of plasma volume with indocyanine green in man. *Life Sci*;53:1597-1604
- Haller M, Brechtelsbauer H, Finsterer U, Forst H, Bein T, Briegel J, Peter K. (1992) Bestimmung des Plasmavolumens mit Indocyaningrün beim Menschen. *Der Anaesthesist*;41:115-120
- Haller M, Dressel H, Thiel M, Orth V, Brechtelsbauer H, Pfeiffer M, Finsterer U. (1997) Determination of Red-Cell Volume with a Non-radioactive Marker (Sodium Fluorescein) in Humans using Flow Cytometry. *Infusionsther Transfusionsmed*;24:132-7
- Haller M, Finsterer U. (1994) Blood volume: Not one single volume but the sum of two volumes with various mixing in different parts of the circulation. *Infusionsther Transfusionsmed*;21:136-137

- Hardy JF. (2003) Should we reconsider triggers for red blood cell transfusion? *Acta Anaesthesiol Belg.* 2003;54(4):287-95.
- Haskell A, Gillen CM, Mack GW, Nadel ER. (1998) Albumin infusion in humans does not model exercise induced hypervolaemia after 24 hours. *Acta Physiol Scand*;164:277-284
- Heath ML, Vickers MD, Dunlap D. (1969) A comparison of macrodex and stored blood as replacement for blood loss during planned surgery. II: Changes in peripheral hematocrit and whole body/large vessel hematocrit ratio. *Br J Anaesth*;41:816-20
- Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, et al. (1999) A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. *N Engl J Med* 1999; 340: 409-417.
- Henry CBS, Durán WN, DeFouw D. (1997) Permeability of angiogenic microvessels following alteration of the endothelial fiber matrix by oligosaccharides. *Microvasc Res*;53:150-155.
- Henry CB, Duling BR. (2000) TNF- α increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol*;279:H2815-H2823
- Hu X, Adamson RH, Liu FE, Curry FE, Weinbaum S. (2000) Starling's forces that oppose filtration after tissue oncotic pressure is increased. *Am J Physiol*;229:HI724-HI736.
- Hu X, Weinbaum S. (1999) A new view of Starling's hypothesis at the microstructural level. *Microvasc Res*;58:281-304.
- Huxley VH, Curry FE. (1985) Albumin modification of capillary permeability: Test of an absorption mechanism. *Am J Physiol*;248:H264-H273.

- Huxley VH, Curry FE. (1987) Effect of superfusate albumin on single capillary hydraulic conductivity. *Am J Physiol*;252:H395-H401.
- Huxley VH, Williams DA. (2000) Role of a glycocalyx on coronary arteriole permeability to proteins: evidence from enzyme treatments. *Am J Physiol*;278:HI177-HI185
- Huxley VH, McKay MK, Meyer DJ Jr, Williams DA, Zhang RS. (1993) Vasoactive hormones and autocrine activation of capillary exchange barrier function. *Blood Cells*. 1993;19(2):309-20; discussion 320-4.
- Innerhofer P, Walleczek C, Luz G, Hobisch-Hagen P, Benzer A, Stockl B, Hessenberger G, Nussbaumer W, Schobersberger W. (1999) Transfusion of buffy coat-depleted blood components and risk of postoperative infection in orthopedic patients. *Transfusion*. 1999 Jun;39(6):625-32.
- International Committee for Standardization in Haematology (Pettit JE, Panel Secretary) (1980) Recommended methods for measuring of red cell and plasma volume. *J Nucl Med*;21:793-800
- Isbister JP. (1997) Physiology and pathophysiology of blood volume regulation. *Transfus Sci*; 18:409-423
- Itoh K, Hirakawa K, Okamoto H, Ukita M, Tanaka H, Sawada N, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. (1999) Infection by an unenveloped DNA virus associated with non-A to -G hepatitis in Japanese blood donors with or without elevated ALT levels. *Transfusion*. 1999 May;39(5):522-6.
- Jacob M, Rehm M, Orth V, Lötsch M, Brechtelsbauer H, Weninger E, Finsterer U. (2003) Volumeneffekte von 6 % Hydroxyethylstärke 130/0,4 (Voluven®) während präoperativer akuter normovolämer Hämodilution. *Der Anaesthetist*;52:896-904

- Kellen MR, Bassingthwaighthe JB. (2003) Transient transcapillary exchange of water driven by osmotic forces in the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Sep;285(3):H1317-31. Epub 2003 May 8.
- Keller MW, Damon DN, Duling BR. (1994) Determination of capillary tube hematocrit during arteriolar microperfusion. *Am J Physiol*;266:H2229-H2238
- Kemming GI, Meisner FG, Kleen M, Meier JM, Tillmanns J, Hutter JW, Wojtczyk CJ, Packert KB, Bottino D, Habler OP. (2003) Hyperoxic ventilation at the critical haematocrit. *Resuscitation*. 2003 Mar;56(3):289-97.
- Klitzman B, Duling BR. (1979) Microvascular hematocrit and red cell flow in resting and contracting striated muscle. *Am J Physiol*;237:H481-H490
- Kornbrust DJ, Barfknecht TR. (1984) Comparison of 7 azo dyes and their azo reduction products in the rat and hamster hepatocyte primary culture/DNA-repair assays. *Mutat Res*; 136:255-266
- Kreimeier U, Messmer K. (1996) Hemodilution in clinical surgery: state of the art 1996. *World J Surg*. 1996 Nov-Dec;20(9):1208-17.
- LaForte AJ, Lee LP, Rich GF, Skalak TC, Lee JS. (1992) Fluid redistribution and shift of blood volume in anesthetized rabbits subject to cyclic hemorrhage. *Am J Physiol*;262:H190-H199
- LaForte AJ, Lee LP, Rich GF, Skalak TC, Lee JS. (1994) Blood volume redistribution from a passive elastic permeable microcirculation due to hypovolemia. *Am J Physiol*;266:H2268-H2278
- Lamkin-Kennard KA, Jaron D, Buerk DG. (2004) Impact of the Fahraeus effect on NO and O₂ biotransport: a computer model. *Microcirculation*. 2004 Jun;11(4):337-49.

- Landsman MLJ, Kwant G, Mook GA, Zijlstra WG. (1976) Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *J Appl Physiol*;40:575-583
- Lauermann I. (1991) A new method for determination of circulating blood volume - erythrocyte marking with sodium fluorescein. *Infusionsther*; 18:130-6
- Lauermann I, Wilhelm G, Kirchner E. (1994) Blood volume determination with sodium fluorescein and radioactive chromium - a clinical comparison of methods. *Infusionsther Transfusionsmed*;21:138-42
- Lundvall J und Lindgren P. (1998) F-cell shift and protein loss strongly affect validity of PV reductions indicated by Hb/Hct and plasma proteins. *J Appl Physiol* 84; 822-829
- Matot I, Scheinin O, Jurim O, Eid A. (2002) Effectiveness of acute normovolemic hemodilution to minimize allogeneic blood transfusions. *Anesthesiology*;97:794-900
- McIlroy DR, Kharasch ED. (2003) Acute intravascular volume expansion with rapidly administered crystalloid or colloid in the setting of moderate hypovolemia. *Anesth Analg* 96:1572-7
- Meyer DJ Jr, Huxley VH. (1990) Differential sensitivity of exchange vessel hydraulic conductivity to atrial natriuretic peptide. *Am J Physiol.* 1990 Feb;258(2 Pt 2):H521-8.
- Michel CC, Phillips ME, Turner MR. (1985) The effects of native and modified bovine serum albumin on the permeability of frog mesenteric capillaries. *J Physiol*;306:333-346.
- Michel CC. (1988) Capillary permeability and how it may change. *J Physiol*;404:1-29.

- Michel CC. (1997) Starling: the formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years. *Exp Physiol.* 1997 Jan;82(1):1-30.
- Monk TG, Goodnough LT, Brecher ME, Pulley DD, Colberg JW, Andriole GL, Catalona WJ. (1997) Acute normovolemic hemodilution can replace preoperative autologous blood donation as a standard of care for autologous blood procurement in radical prostatectomy. *Anesth Analg.* 1997 Nov;85(5):953-8.
- Montea G, Brölsauer M, Jäger K, Bollinger A. (1987) Infrared fluorescence videomicroscopy of skin capillaries with indocyanine green. *Int J Microcirc Clin Exp*;6:25-34
- Murphy WG. (2002) Disease Transmission by blood products: past, present and future. *Pathophysiol Haemost Thromb*;32 Suppl. 1:1-4
- Nakane H, Balzarini J, De Clercq E, Ono K. (1988) Differential inhibition of various deoxyribonucleic acid polymerases by Evans blue and aurointricarboxylic acid. *Eur J Biochem.* 1988 Oct 15;177(1):91-6.
- Napier JA; Bruce M; Chapman J; Duguid JK; Kelsey PR; Knowles SM; Murphy MF; Williamson LM; Wood JK; Lee D; Contreras M; Cross N; Desmond MJ; Gillon J; Lardy A; Williams FG. (1997) Guidelines for autologous transfusion. II. Perioperative haemodilution and cell salvage. British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force. Autologous Transfusion Working Party. *Br J Anaesth* 1997 Jun;78(6):768-71
- National Heart, Lung, and Blood Institute Expert Panel on the use of Autologous Blood. (1995) Transfusion alert: Use of autologous blood. *Transfusion.* 1995 Aug;35(8):703-11.
- Nnodu OE, Odunukwe N, Odunubi O, Ekanem E, Njoku OS. (2003) Cost effectiveness of autologous blood transfusion--a developing country hospital's perspective. *West Afr J Med.* 2003 Jan-Mar;22(1):10-2

- Novotny HR, Alvis DL. (2003) A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation*. 1961 Jul;24:82-6.
- Orth V, Rehm M, Thiel M, Kreimeier U, Haller M, Brechtelsbauer H, and Finsterer U. (1998) First clinical implications of perioperative red cell volume measurement with a nonradioactive marker (sodium fluorescein). *Anesth Analg*;87:1234-8.
- Orth V, Rehm M, Brechtelsbauer H, Kimming R, Finsterer U. (2000). Niedrige Transfusionsrate bei Patientinnen mit Wertheim-Meigs-Operation durch präoperative isovolämische Hämodilution und perioperative Erythrozyten- und Plasmavolumenmessungen. *Geburtsh Frauenh*;60:199-205.
- Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, Lanciotti RS, Page PL, Stramer SL, Stobierski MG, Signs K, Newman B, Kapoor H, Goodman JL, Chamberland ME. (2003) West Nile Virus Transmission Investigation Team. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med*. 2003 Sep 25;349(13):1236-45.
- Pearson TC, Guthrie DL, Simpson J, Chinn S, Barosi G, Ferrant A, Lewis SM, Najean Y. (1995) Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults: Expert Panel on Radionuclides of the International Council for Standardization in Haematology. *Br J Haematol*;89:748-756
- Perrotta PL, Snyder EL. (2001) Non-infectious complications of transfusion therapy. *Blood Rev*; 15:69-83
- Peterson MW, Gruenhaupt D. (1992) Protamine interaction with the endothelial cell surface. *J Appl Physiol*;72:236-241
- Phelps JE, DePaola N. (2000) Spatial variations in endothelial barrier function in disturbed flows in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000 Feb;278(2):H469-76.

- Practice Guidelines for blood component therapy. (1996) A report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. *Anesthesiology*;84:732-747
- Pries AR, Neuhaus D, Gaehtgens P. (1992) Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am J Physiol*. 1992 Dec;263(6 Pt 2):H1770-8.
- Pries AR, Secomb TW, Jacobs H, Sperandio M, Osterloh K, Gaehtgens P. (1997) Microvascular blood flow resistance: role of endothelial surface layer. *Am J Physiol*. 1997 Nov;273(5 Pt 2):H2272-9
- Pries AR, Secomb TW, Sperandio M, Gaehtgens P. (1998) Blood flow resistance during hemodilution: effect of plasma composition. *Cardiovasc Res*;37:225-35
- Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. (2000) The endothelial surface layer. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*;440:653-66.
- Pries AR, Reglin B, Secomb TW. (2003) Structural response of microcirculatory networks to changes in demand: information transfer by shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Jun;284(6):H2204-12.
- Regan F, Taylor C. (2002) Recent developments: Blood transfusions medicine. *BMJ*;325:143-147
- Rehm M, Haller M, Brechtelsbauer H, Akbulut C, Finsterer U. (1998)¹: Extra protein loss not caused by surgical bleeding in patients with ovarian cancer. *Acta Anaesthesiol Scand*;42:39-46
- Rehm M, Haller M, Brechtelsbauer H, Akbulut C, Finsterer U. (1998)²: Changes in plasma volume in immediate pre- and postoperative periods in patients with major gynaecologic surgery. *Infusionsther Transfusionsmed*;25:222-8

- Rehm M, Orth V, Kreimeier U, Thiel M, Haller M, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2000)¹. Changes in intravascular volume during acute normovolemic hemodilution and intraoperative retransfusion in patients with radical hysterectomy. *Anesthesiology*;92:657-664
- Rehm M, Orth V, Scheingraber S, Kreimeier U, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2000)². Acid-base changes caused by 5 % albumin versus 6 % hydroxyethylstarch solution in patients undergoing acute normovolemic hemodilution. *Anesthesiology*;93:1174-83
- Rehm M, Orth V, Kreimeier U, Thiel M, Haller M, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2000)³. Four cases of radical hysterectomy with acute normovolemic hemodilution despite low preoperative hematocrit values. *Anesth Analg*;90:852-5
- Rehm M, Orth V, Kreimeier U, Thiel M, Mayr S, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2001)¹. Veränderungen des Blutvolumens während akuter normovolämer Hämodilution mit 5 % Albumin oder 6 % Hydroxyäthylstärke und intraoperativer Retransfusion: *Der Anaesthesist*;50:569-79
- Rehm M, Orth V, Weninger E, Jacob M, Mayr S, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2001)². Akute "normovoläme" Hämodilution mit 3,5 % Polygelin (Haemaccel®) bei einer Patientin vor Wertheim-Meigs-Operation. Blutverlust von 87% des Blutvolumens ohne perioperative Fremdbluttransfusion. *Der Anaesthesist*;50:580-84
- Rehm M, Haller M, Orth H, Kreimeier U, Jacob M, Dressel H, Mayr S, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2001)³ Changes in blood volume and hematocrit during acute preoperative volume loading with 5 % albumin or 6 % hetastarch solutions in patients before radical hysterectomy. *Anesthesiology*;95:849-856
- Rehm M, Zahler S, Lotsch M, Welsch U, Conzen P, Jacob M, Becker BF. (2004) Endothelial glycocalyx as an additional barrier determining extravasation of 6 % hydroxyethyl starch or 5 % albumin solutions in the coronary vascular bed. *Anesthesiology*. 2004 May;100(5):1211-23.

- Renkin EM, Tucker V, Rew K, O'Loughlin D, Wong M, Sibley L. (1992) Plasma volume expansion with colloids increases blood-tissue albumin transport. *Am J Physiol*;262:H1054-H1067
- Renkin EM. (1994) Cellular aspects of transvascular exchange: A 40-year perspective. *Microcirculation* 1994 Oct;1(3):157-67
- Romanchuk KG. (1982) Fluorescein. Physiochemical factors affecting its fluorescence. *Surv Ophthalmol*;26:269-83
- Schad H, Haider M, Brechtelsbauer H. (1987) Bestimmung des Plasmavolumens mit Indocyaningrün. *Der Anaesthesist*;36:608-614
- Secomb TW, Hsu R, Pries AR. (1989) A model for red cell motion in glycocalyx-lined capillaries. *Am J Physiol*. 1998 Mar;274(3 Pt 2):H1016-22.
- Secomb TW, Hsu R, Pries AR. (2001) Effect of the endothelial surface layer on transmission of fluid shear stress to endothelial cells. *Biorheology*. 2001;38(2-3):143-50.
- Secomb TW, Hsu R, Pries AR. (2002) Blood flow and red blood cell deformation in nonuniform capillaries: effects of the endothelial surface layer. *Microcirculation*. 2002 Jul;9(3):189-96)
- Skinner RA, Tucker VL, Curry FR. (1999) Acute effects of tumor necrosis factor on hydraulic conductivity of mammalian postcapillary venules. *J Trauma*. 1999 Sep;47(3):486-91.
- Smith HP, Arnold HR, Whippie GH. (1921) Blood volume studies VII. Comparative values of Welker, carbon monoxide and dye methods for blood volume determinations. Accurate estimation of absolute blood volume. *Am J Physiol*;56:336-60

- Spahn DR. (2000) Perioperative Transfusion Triggers for Red Blood Cells. *Vox Sang.* 2000;78 Suppl 2:163-6.
- Spiess BD, Counts RB, Gould SA. (1998) Perioperative transfusion medicine. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1998.
- Squire JM, Chew M, Nneij G, Neal C, Barry C, Michel C. (2001) Quasi-periodic substructure in the microvessel endothelial glycocalyx: a possible explanation for molecular filtering? *J Struct Biol*;136:239-255
- Starling EH. (1896) On the absorption of fluids from connective tissue spaces. *J Physiol*; 19:312-326.
- Stehling L, Zauder HL. (1991) Acute normovolemic hemodilution. *Transfusion* 1991;31:857-67.
- Stehling L, Zauder HL. (1994) Controversies in transfusion medicine. Perioperative hemodilution: Pro. *Transfusion*. 1994 Mar;34(3):265-8.
- Sugimoto E, Shigemi K, Okuno T, Yawata T, Morimoto T. (1989) Effect of ANP on circulating blood volume. *Am J Physiol*. 1989 Jul;257(1 Pt 2):R127-31.
- Sun C, Munn LL. (2005) Particulate nature of blood determines macroscopic rheology: a 2-D lattice Boltzmann analysis. *Biophys J*. 2005 Mar;88(3):1635-45.
- Sunnergren, KP, Fairman RP, DeBlois GG, Glauser FL. (1987) Effects of protamine, heparinase, and hyaluronidase on endothelial permeability and surface charge. *J Appl Physiol*;63:1987 -1992
- Tajima A, Nakata H, Lin SZ, Acuff V, Fenstermacher J. (1992) Differences and similarities in albumin and red blood cell flows through cerebral microvessels. *Am J Physiol*. 1992 May;262(5 Pt 2):H1515-24.

- Thomas MJG, Gillon J, Desmond MJ. (1996) An organisers' view. *Transfusion* 1996; 36: 626-627.
- Trainor C, Silverman M. (1982) Transcapillary exchange of molecular weight markers in the postglomerular circulation: application of a barrier-limited model. *Am J Physiol Renal Physiol* 242: F436-F446, 1982
- Treschan TA, Taguchi A, Ali SZ, Sharma N, Kabon B, Sessler DI, Kurz A. (2003) The effects of epidural and general anesthesia on tissue oxygenation. *Anesth Analg.* 2003 Jun;96(6):1553-7, table of contents
- Tucker VL. (1996) Plasma ANP levels and protein extravasation during graded expansion with equilibrated whole blood. *Am J Physiol*;271:R601-R609
- Tucker VL. (1996) Contribution of ANP to plasma protein escape during VE: effects of thiorphan and atrial appendectomy. *Am J Physiol*;271:R610-R618
- Tucker VL; Simanonok KE; Renkin EM. (1992) Tissue-specific effects of physiological ANP infusion on blood-tissue albumin transport. *Am J Physiol* 1992 Oct;263(4 Pt 2):R945-53
- Turner ML, Ironside JW. (1998) New-variant Creutzfeldt-Jakob disease: The risk of transmission by blood transfusion. *Blood Rev.* 1998 Dec;12(4):255-68.
- Vamvakas EC. (2002) Meta-analysis of randomized controlled trials comparing the risk of postoperative infection between recipients of allogeneic and autologous blood transfusion. *Vox Sang.* 2002 Nov;83(4):339-46.
- Vanderlinde ES, Heal JM, Blumberg N. (2002) Autologous transfusion. *BMJ.* 2002 Mar 30;324(7340):772-5.

- van Haaren PM, VanBavel E, Vink H, Spaan JA. (2003) Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Dec;285(6):H2848-56.
- Viale JP, Annat GJ, Tissot SM, Hoen JP, Butin EM, Bertrand OJ, Motin JP. (1990) Mass spectrometric measurements of oxygen uptake during epidural anesthesia combined with general anesthesia. *Anesth Analg*;70:589-593
- Vink H, Duling BR. (1996) Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes and leucocytes within mammalian capillaries. *Circ Res*;79:581-9
- Vink H, Duling BR. (2000) Capillary endothelial surface layer selectively reduces plasma solute distribution volume. *Am J Physiol*;278:H285-H289
- Vogel J, Speradino M, Pries AR, Linderkamp O, Gaehtgens P, Kuschinsky W. (2000) Influence of the endothelial glycocalyx on cerebral blood flow in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*;20:1571-1578.
- Weinbaum S, Tsay R, Curry FE. (1992) A three-dimensional junction-pore-matrix model for capillary permeability. *Microvasc Res*. 1992 Jul;44(1):85-111.
- Weinbaum S. (1998) 1997 Whitaker Distinguished Lecture: Models to solve mysteries in biomechanics at the cellular level; a new view of fiber matrix layers. *Ann Biomed Eng*. 1998 Jul-Aug;26(4):627-43.
- Weiskopf RB. (1995) Mathematical analysis of isovolemic hemodilution indicates that it can decrease the need for allogeneic blood transfusion. *Transfusion*. 1995 Jan;35(1):37-41.
- Weiskopf RB. (2001) Efficiency of acute normovolemic hemodilution assessed as a function of fraction of blood volume lost. *Anesthesiology*;94:439-46

- Weiskopf RB. (2002) Hemodilution and candles (Editorial) *Anesthesiology* 2002;97:773-5
- Weiskopf RB, Viele MK, Feiner J, Kelley S, Lieberman J, Noorani M, Leung JM, Fisher DM, Murray WR, Toy P, Moore MA. (1998) Human cardiovascular and metabolic response to acute severe isovolemic anemia. *JAMA*;279:217-221
- Whipple GH, Hooper CW, Robscheit FS. (1920) Blood regeneration following simple anemia. I. Mixed diet reaction. *Am J Physiol*;53:151-166
- Williams DA. (1999) Network assessment of capillary hydraulic conductivity after abrupt changes in fluid shear stress. *Microvasc Res.* 1999 Mar;57(2):107-17.
- Williams DA, Huxley VH. (1993) Bradykinin-induced elevations of hydraulic conductivity display spatial and temporal variations in frog capillaries. *Am J Physiol.* 1993 May;264(5 Pt 2):H1575-81.
- Wright RR, Tono M, Pollycove M. (1975) Blood volume. *Semin Nucl Med*;5:63-78
- Zaugg-Vesti BR, Franzeck UK, von Ziegler C, Pfister G, Yanar A, Bollinger A. (1995) Skin capillary aneurysms detected by indocyanine green in type I diabetes with and without retinal microaneurysms. *Int J Microcirc*;15:193-8
- Zollinger A, Hager P, Singer T, Friedl HP, Pasch T, Spahn DR. (1997) Extreme hemodilution due to massive blood loss in tumor surgery. *Anesthesiology.* 1997 Oct;87(4):985-7.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS:

Abb.	Abbildung
ANH	Akute normovoläme Hämodilution
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
ASA	Klassifikation der American Society of Anesthesiology
BNP	B-Typ natriuretisches Peptid (brain natriuretic peptide)
BV	Blutvolumen
BV _{ICG}	„Apparentes“ Blutvolumen
cHES	Hydroxyethylstärkekonzentration
cHES-m	Mittlere HES-Konzentration im Plasma;
cHES _{Urin}	HES-Konzentration im Urin
Co	Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion von Indocyaningrün
Co _{Plasma}	Plasmakonzentration
Co _{Vollblut}	Vollblutkonzentration
cSt	Standardkonzentration von HES
Delta (Δ)	Änderung
E	Extinktion
ESL	Endothelial Surface Layer
EV-ICG	theoretisches Erythrozytenvolumen (aus PV-Messung, Hct und f-cell errechnet)
EZR	Extrazellulärraum
FACS	Durchflusszytometer (Fluorescent Activated Cell Sorting)
f-cell	Quotient aus dem mittleren Ganzkörperhämatokrit (WBH) und dem makrovaskulären Hämatokrit (Hct _{LV})
FL	Fluoreszenzkanal
F _{RCF}	Fraktion der fluoreszierenden Erythrozyten (Red Cells)
FSC	Forward light scatter = Vorwärtsstreulicht
HA	Humanalbumin 5 %
Hb	Hämoglobinkonzentration
Hct	Hämatokrit
Hct _{LV}	Makrovaskulärer Hämatokrit (large-vessel-Hämatokrit)
Hct _p	Zentrifugenhämatokrit
Hct-end _t	Theoretischer postoperativer Hämatokrit (ohne ANH)
Hct-m	Mittelwert aller intraoperativ gemessenen Hct _{LV} -Werte

Hct-m _t	Theoretischer mittlerer intraoperativer Hämatokrit (ohne ANH)
HDM	Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode
HES	Hydroxyethylstärke 6 %
HES-Shift	HES-Gesamtbilanz
ICG	Indocyaningrün
IV-HES	Intravasale HES-Menge
IVP	Intravasale Proteinmenge
LED	Leuchtdiode
m	Index für mittleren Wert
MCV	Mittleres zelluläres Volumen der Erythrozyten
Mi _{ICG}	Injizierte ICG-Menge
MW	Mittelwert
NaCl	Isotone Kochsalzlösung 0,9%
p	Signifikanzniveau
Prot	Gesamteiweißplasmakonzentration
PV	Plasmavolumen
PV-circ	Zirkulierendes Plasmavolumen
PV-ICG	Mittels ICG gemessenes Plasmavolumen
r	Regressionskoeffizient
RC _i	Anzahl der injizierten Erythrozyten pro ml markierter Erythrozytensuspension
RC _p	Erythrozytenanzahl pro ml Vollblut des Patienten
RCV	Erythrozytenvolumen (red cell volume)
SD	Standardabweichung
SoF	Fluorescein-Natrium
SSC	Side scatter = Seitwärtsstreulicht
t	Index für theoretisch, ohne durchgeführte ANH
Tab.	Tabelle
$V_i \times RC_i / F_{RCf}$	Gesamtzahl aller Erythrozyten des Patienten
$V_i \times RC_i$	Gesamtzahl der markierten Erythrozyten
V _i	Volumen der injizierten Erythrozytensuspension
VL	Volume Loading
WBH	Ganzkörperhämatokrit (whole body hematocrit)
ZVD	Zentralvenöser Druck

DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. K. Peter danke ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie die Bereitstellung der Mittel zur Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Ganz besonders danke ich Herrn Professor Dr. U. Finsterer für die wissenschaftliche Betreuung, die freundliche Arbeitsatmosphäre und seinen persönlichen hilfsbereiten Einsatz bei der Durchführung der Studie.

Mein größter Dank gilt Herrn PD Dr. M. Rehm, der durch seine unermüdliche und zuverlässige Unterstützung mich nicht nur exzellent betreute, sondern vor allem durch tiefgründige Fachkenntnisse, wertvolle Erklärungen und konstruktive Kritik meine Begeisterung für das Forschungsthema und nicht zuletzt diese Arbeit gefördert hat. Ohne seine hilfreiche Unterstützung wäre die Arbeit einfach niemals möglich gewesen.

Ganz besonders dankbar bin ich auch Frau Dr. V. von Selchow, die in freundschaftlicher Verbundenheit mein Interesse für die Thematik geweckt und mich geduldig bei den Erythrozytenvolumen-Messungen eingearbeitet und unterstützt hat.

Herrn H. Brechtelsbauer danke ich sehr, da er einen unverzichtbaren Beitrag zur Erhebung der Messergebnisse leistete.

Ferner gebührt mein Dank den medizinisch-technischen Assistentinnen des Forschungslabors am Institut für Anästhesiologie, insbesondere Frau U. Göttler, Frau G. Gröger und Frau M. Hörl, für ihre stets freundliche Hilfe bei der Durchführung von Laboranalysen.

Meinen Eltern danke ich herzlichst für ihre Unterstützung und guten Ratschläge. Zu guter letzt danke ich meinem Mann Axel Gehrke von ganzem Herzen für seinen liebevollen und geduldigen „Computer-Support“ und seine Hilfestellung bei der Einarbeitung in das Programm Excel.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name: Sabine Mayr-Gehrke
Adresse: Bellinzonastraße 1, 81475 München
Geboren am: 5. Oktober 1975 in Kempten / Allgäu
Familienstand: verheiratet

Schulbildung:

1981 – 1985 Grundschohle in Kempten
1985 – 1989 Carl von Linde – Gymnasium, Kempten
1989 – 1994 Maria Ward – Gymnasium, Augsburg

Hochschulbildung:

Apr. 1996 – Nov. 2002 Studium der Humanmedizin an der
Ludwig – Maximilians – Universität München
Apr. 1998 Ärztliche Vorprüfung
März 1999 1. Staatsexamen
März 2001 2. Staatsexamen
Nov. 2002 3. Staatsexamen

Praktisches Jahr:

Okt. 2001 – Dez. 2001 Chirurgie - Toronto East General Hospital, Kanada
Dez. 2001 – Feb. 2002 Chirurgie - Kreiskrankenhaus Starnberg
Feb. 2002 – Mai 2002 Gynäkologie - Universitätsklinikum Großhadern, München
Mai 2002 – Sep. 2002 Innere Medizin - Klinikum München-Harlaching

Famulaturen:

Aug. 1998 Innere Medizin - Universitätsklinikum Großhadern,
München
Aug. 1999 Anästhesie - Klinikum Innenstadt, München
Sep. 1999 Pädiatrie - Klinikum München-Harlaching
Apr. 2000 Allgemeinmedizin - Praxis Dr. E. Prinz, Augsburg
Sep. 2000 Gynäkologie - Universitätsklinikum Großhadern, München

Ärztliche Tätigkeit:

ab 1. Mai 2003: Ärztin im Praktikum und
seit Okt. 2004 Assistenzärztin in der Abt. für Gynäkologie und Geburtshilfe (Prof. Dr. D. Grab) im Klinikum München-Harlaching

Praktika:

Okt. 1994 – Jan. 1995 Pflegepraktikum Klinik Josefinum, Augsburg
Jan. 1995 – Mai 1995 Betriebswirtschaftliches Praktikum, Archipas Software GmbH, Augsburg

Auslandsaufenthalt:

Jul. 1995 – Feb. 1996 Studium der italienischen Sprache an der Universität Urbino und am Sprachinstitut „Lorenzo de Medici“ Florenz, Italien; Abschluss: Magister-Linguae-Diplom